

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA  
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**



**ESTUDIO DE LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA DE  
*LACTOBACILLUS* A PARTIR DE LACTOSUERO DE CABRA, A  
ESCALA DE LABORATORIO**

**TRABAJO DE DIPLOMA PRESENTADO POR:**

**Bra. María Gabriela Mora Estrada  
Br. Jhonny Emmanuel Zeledón Granados**

**PARA OPTAR AL TÍTULO DE:**

**INGENIERO QUÍMICO**

**TUTOR:**

**Ing. Javier Enrique Ramírez Meza**

**ASESOR:**

**Tec. Alejandro Hernández**

**Managua, Nicaragua 2016**

## *Dedicatoria*

*Con toda la humildad que puede emanar de mi corazón dedico primeramente mi trabajo monográfico a mí **Dios** el creador de todas las cosas, quien supo guiarme por el buen camino dándome fuerzas para seguir adelante y no desfallecer ante los problemas.*

*A mi madre **Evalina Estrada Cabrera**, por ser mi amiga y compañera que me ha ayudado a crecer, gracias por estar siempre conmigo en cada momento, por la paciencia que has tenido para enseñarme, por el amor que me das, por tus cuidados en el tiempo, por los regaños que merecía y por los que no entendía, gracias madre por estar al pendiente de mí en toda esta etapa.*

*A mi abuelito **Clemente Trinidad Mora Solórzano**, por estar siempre en los momentos más importantes de mi vida, por ser ejemplo para salir adelante y por los consejos que me han sido de gran ayuda en mi vida. Esta monografía es el resultado de lo que me enseñaste en la vida ya que fuiste una persona honesta entregada al trabajo y un gran líder, pero más que eso una persona que siempre supo salir adelante y ser un triunfador.*

*A mi abuela **Yolanda Mejía** que con la sabiduría de Dios me ha enseñado a ser quien soy, gracias por tu paciencia, por enseñarme el camino de la vida, gracias por llevarme en tus oraciones porque estoy segura que siempre las haces.*

*A **Franklin Eliezer Chávez Guerrero** mi mejor amigo en este mundo, por estar siempre conmigo apoyándome en las buenas y en las malas, por la paciencia que me has tenido, por tus consejos, por el apoyo incondicional en vida.*

*A mi compañero de tesis **Jhonny Enmanuel Zeledón Granados** por tu apoyo y confianza, gracias por complementarme.*

*A **José Clemente Mora Estrada** mi hermano mayor que de una u otra manera me apoyo durante estos cinco años de carrera.*

*A mi tía **Esmeralda de los Angeles Mora**, por fortalecerme en las derrotas, apoyarme y aconsejarme en la vida.*

*Al **Tec. Alejandro Hernández** responsable del laboratorio de alimentos, al **Ing. Javier Ramírez Meza** jefe de departamento de la facultad de ingeniería químico y al **Msc. Néstor Fong** profesor titular de la Universidad de Ingeniería, gracias por su apoyo incondicional.*

*A mis amigos: **José Eliú Martínez Flores**, **Melba Iris Rodas Quiroz**, **Elisabeth del Rosario Nurinda Tercero** y **José María Torres Largaespada** por pasar a mi lado los momentos de mi vida universitaria. De forma particular a **José Eliú Martínez Flores** por acompañarnos en la fase experimental.*

***María Gabriela Mora Estrada***

## *Dedicatoria*

*Este trabajo monográfico se lo dedico primeramente a **Dios todo Poderoso**, creador del cielo y de la tierra. Sin duda alguna Él me ha brindado la sabiduría, inteligencia y perseverancia, poniendo en mi camino a todas las personas indicadas para poder culminar esta obra. ¡Bendito seas Señor!*

*A mi mamá **Lic. María Granados García**, quien ha sido madre y padre en mi vida, desde el día en el que me llevaste en tu vientre me has amado con todo tu cariño y educado de la mejor manera inculcándome valores y principios correctos, apoyándome en todo momento durante mi formación académica. A ti madre te dedico esta obra, porque sin tu apoyo incondicional no la hubiera finalizado.*

*A mi hermana **Dilany Briseyda González**, quien me ha alentado en todo momento a seguir adelante a perseverar para alcanzar cada uno de mis sueños.*

*A mi amiga, novia y confidente **Lic. Gabriela Mireya Brenes**. Un día Dios te puso en mi camino para compartir los gratos momentos de la vida; alegrías, sueños y metas, siendo uno la finalización de esta monografía, que durante ella me apoyaste, animaste y aconsejaste siempre por el buen camino. Te agradezco por todo tu cariño y amor indispensable que me has demostrado durante este trabajo.*

*A mis mentores durante la carrera, que con sus conocimientos y apoyo he finalizado este trabajo, en especial al **Ing. Javier Ramírez Meza**, tutor y mentor de esta monografía quien me ha transmitido cada uno de sus conocimientos, al asesor de esta monografía **Tec. Alejandro Hernández**, por compartirme abiertamente sus conocimientos sobre microbiología de alimentos, parte fundamental para la realización de este trabajo y al **MSc. Néstor Fong Jorge** por su apoyo, ánimo y consejos valiosos para la realización de esta monografía.*

*Y por último y no menos importante, a mis **amigos** por su apoyo y consejos durante toda la carrera y principalmente en esta última etapa, en especial a mi compañera de tesis **Gabriela Mora Estrada**, por tu apoyo y ánimo para finalizar este trabajo.*

*Jhonny Enmanuel Zeledón Granados*

## *Agradecimientos*

*Expresamos nuestro más sincero agradecimiento a todo aquel que fue parte de esta última etapa de nuestra carrera universitaria, con especial consideración a:*

- *Ing. Javier Ramírez Meza, profesor titular de la Facultad de Ingeniería Química (FIQ) de la UNI y tutor de esta monografía*
- *Tec. Alejandro Celestino Hernández, responsable del laboratorio de alimentos de Facultad de Ingeniería Química (FIQ) de la UNI y asesor técnico de esta monografía*
- *MSc. Néstor Fong Jorge, profesor titular de la carrera de Ingeniería Química de la Facultad de Ingeniería Química (FIQ)*
- *Lic. Cesar Antonio Quintero Canizales, profesor titular de la carrera de Ingeniería Química de la Facultad de Ingeniería Química (FIQ)*
- *Ing. Onell Morales Cortez, responsable del Laboratorio de Operaciones Unitarias de la FIQ-UNI*
- *Laboratorio de Alimentos del MIFIC (LABAL)*

*¡Muchas Gracias!*

Managua, 01 de Abril del 2016

### Opinión del catedrático guía

Por este medio hago constar que he brindado seguimiento al trabajo monográfico realizado por los bachilleres. María Gabriela Mora Estrada, y Jhonny Emmanuel Zeledón Granados titulado: Estudio de la producción de biomasa de lactobacillus a partir de lactosuero de cabra, a escala de laboratorio.

Es importante destacar, que todo lo presentado en el estudio surgió de la necesidad de estudiar la utilidad del lactosuero de cabra para reproducir bacterias del género lactobacillus, con el propósito de ser utilizadas posteriormente en proyectos relacionados con la elaboración de productos alimenticios y farmacéuticos. Por tanto, los resultados presentados en esta monografía serán tomados en cuenta por la Universidad para su posterior implementación, de esta forma esta monografía contribuirá a desarrollar productos para el sector de la biotecnología industrial.

Por otro lado, las actividades realizadas y presentadas en el documento, cumplen con lo establecido en la normativa de culminación de estudio, de la Universidad Nacional de Ingeniería. Durante el desarrollo de la monografía ellas han implementado gran parte de los conocimientos adquiridos durante sus estudios, además requirieron de una preparación extra (mediante el autoestudio y/o capacitación), para poder concluir con éxito su trabajo monográfico.

Por todo lo expuesto anteriormente, aseguro que ambas bachilleres reúnen en este trabajo los requisitos para que opten al título de Ingeniero Químico.

Sin más a que referirme, me despido

*Atentamente*



**Javier Enrique Ramirez Meza**  
Profesor Titular  
Departamento de Operaciones Unitarias  
Facultad de Ingeniería Química  
Universidad Nacional de Ingeniería  
[jramirez@uni.edu.ni](mailto:jramirez@uni.edu.ni)

cc archivo

## Resumen

En el presente trabajo se estudia el uso de lactosuero de cabra como medio de crecimiento para la obtención de biomasa de *Lactobacillus*, el lactosuero se obtuvo por medio de la elaboración de queso fresco de cabra a escala de laboratorio, el cual fue caracterizado físico-químicamente y se determinó el contenido de micro y macro nutrientes de interés.

El proceso de obtención de biomasa de *Lactobacillus* se realizó vía fermentación en un biorreactor en condiciones fijas de operación a temperatura de 30 °C y 300 rpm, inoculado con bacterias del género *Lactobacillus* aisladas de yogur natural por resiembra de bacterias en tubo inclinado y placa de Petri en condiciones de microaerofilia, se identificó su morfología celular por microscopía, caracterizando la especie por pruebas de tinción de Gram y catalasa.

Seguidamente, se realizaron ensayos de fermentación con lactosuero de cabra íntegro y enriquecido para determinar la curva de crecimiento en un período de treinta horas. Para lograr esto se realizaron muestreos cada quince minutos las dos primeras horas y cada dos horas hasta el final de la fermentación.

Se registraron los datos para la curva de crecimiento y se determinó tanto el rendimiento estimado, como la productividad promedio de biomasa de los experimentos de fermentación para lactosuero íntegro y lactosuero enriquecido. Los datos experimentales obtenidos para la etapa de crecimiento exponencial, fueron ajustados al modelo logístico para determinar la tasa específica de crecimiento.

La máxima concentración de biomasa de *Lactobacillus* obtenida para el medio LSI fue de 2,9 g/L a las doce horas de fermentación, mientras que para LSE1 fue de 3,99 g/L a las dieciocho horas, por ultimo para LSE2 se obtuvo 4,5 g/L a las dieciséis horas, por lo tanto existió una mayor concentración de biomasa de *Lactobacillus* en este último medio. El medio LSE2 presentó el mayor rendimiento estimado de biomasa producida con un valor de 0,0643, siendo 1,19 y 1,13 veces mayor con respecto a LSE1 y LSE2 respectivamente.

La productividad promedio obtenida para cada medio fermentativo fueron: 0,2741, 0,2429 y 0,2393 (g/Lxh) para LSI, LSE1 y LSE2 respectivamente, lo que indica que el LSI sin necesidad de enriquecimiento es el medio de crecimiento más productivo. Igualmente, la tasa específica de crecimiento más alta se obtuvo para el medio LSI, equivalente a  $0,4717\text{ h}^{-1}$ , el cual es 1,8 veces mayor que para los medios LSE1 y LSE2.

Para futuras investigaciones se recomienda realizar estudios cinéticos para el consumo de sustrato, producción de ácido láctico, otros metabolitos y la caracterización de los *Lactobacillus* en la biomasa obtenida.

## Tabla de Contenido

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	iii
OPINIÓN DEL CATEDRÁTICO GUÍA.....	iv
RESUMEN.....	v
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. OBJETIVOS.....	3
2.1 Objetivo General:.....	3
2.2 Objetivos específicos:.....	3
III. MARCO TEÓRICO .....	4
3.1 Microbiología industrial.....	4
3.2 La leche de cabra.....	4
3.2.1 Características generales de la leche de cabra .....	4
3.3 Queso fresco de cabra .....	6
3.3.1 Elaboración de queso fresco de cabra.....	6
3.3.2 Características generales del queso fresco de cabra .....	7
3.3.3 Proteínas del queso fresco de cabra .....	7
3.4 El lactosuero íntegro de cabra.....	7
3.4.1 Composición de lactosuero íntegro .....	8
3.4.1.1 Características físico-químicas y valor nutritivo del lactosuero íntegro .....	8
3.4.1.2 Proteínas de lactosuero íntegro y su importancia .....	9
3.4.2 Aplicación industrial del lactosuero íntegro.....	10
3.4.3 Lactosuero enriquecido .....	10
3.5 Biomasa de <i>Lactobacillus</i> a partir de lactosuero de cabra .....	10
3.5.1 Proceso de obtención de la biomasa de <i>Lactobacillus</i> .....	10
3.5.2 Proceso fermentativo de <i>Lactobacillus</i> .....	11
3.5.2.1 Parámetros que afectan el proceso de fermentación .....	11
3.5.3 Cinética de crecimiento de la biomasa de <i>Lactobacillus</i> .....	12
3.5.4 Importancia de la biomasa de <i>Lactobacillus</i> .....	12



<b>IV. METODOLOGÍA DE TRABAJO .....</b>	<b>13</b>
<b>4.1 Determinación de propiedades físico-químicas y composición de micro y macro nutrientes de la leche, queso fresco y lactosuero íntegro de cabra...</b>	<b>13</b>
<b>4.1.1 Propiedades físico-químicas de la leche de cabra .....</b>	<b>13</b>
<b>4.1.1.1 Determinación de la densidad de la leche de cabra .....</b>	<b>13</b>
<b>4.1.1.2 Determinación de pH de la leche de cabra .....</b>	<b>14</b>
<b>4.1.1.3 Determinación de humedad de la leche de cabra.....</b>	<b>15</b>
<b>4.1.2 Determinación de micro y macro nutrientes de la leche de cabra.....</b>	<b>16</b>
<b>4.1.2.1 Determinación de cenizas de la leche de cabra .....</b>	<b>16</b>
<b>4.1.2.2 Determinación de grasas de la leche de cabra.....</b>	<b>17</b>
<b>4.1.2.3 Determinación de proteínas de la leche de cabra.....</b>	<b>18</b>
<b>4.1.2.4 Determinación de azúcares totales de la leche de cabra.....</b>	<b>18</b>
<b>4.1.3 Determinación de las propiedades físico-químicas en el queso fresco de cabra.....</b>	<b>19</b>
<b>4.1.3.1 Determinación de la densidad aparente del queso fresco de cabra .....</b>	<b>19</b>
<b>4.1.3.2 Determinación de humedad del queso fresco de cabra.....</b>	<b>20</b>
<b>4.1.4 Determinación de micro y macro nutrientes del queso fresco de cabra..</b>	<b>21</b>
<b>4.1.4.1 Determinación de cenizas del queso fresco de cabra.....</b>	<b>21</b>
<b>4.1.4.2 Determinación de grasas del queso fresco de cabra .....</b>	<b>22</b>
<b>4.1.4.3 Determinación de proteínas del queso fresco de cabra .....</b>	<b>22</b>
<b>4.1.4.4 Determinación de azúcares totales del queso de cabra.....</b>	<b>23</b>
<b>4.1.5 Determinación de las propiedades físico-químicas del lactosuero íntegro.....</b>	<b>23</b>
<b>4.1.5.1 Determinación de la densidad del lactosuero íntegro .....</b>	<b>23</b>
<b>4.1.5.2 Determinación de pH del lactosuero íntegro .....</b>	<b>24</b>
<b>4.1.5.3 Determinación de humedad del lactosuero íntegro.....</b>	<b>24</b>
<b>4.1.6 Determinación de micro y macro nutrientes del lactosuero íntegro....</b>	<b>25</b>
<b>4.1.6.1 Determinación de cenizas del lactosuero íntegro .....</b>	<b>25</b>
<b>4.1.6.2 Determinación de grasas del lactosuero íntegro.....</b>	<b>26</b>
<b>4.1.6.3 Determinación de proteínas del lactosuero íntegro.....</b>	<b>27</b>
<b>4.1.6.4 Determinación de azúcares totales en lactosuero íntegro .....</b>	<b>27</b>



4.2	Producción de biomasa de <i>Lactobacillus</i> a partir de lactosuero íntegro y lactosuero enriquecido .....	27
4.2.1	Aislamiento de <i>Lactobacillus</i> .....	28
4.2.1.1	Siembra bacteriológica .....	28
4.2.1.2	Morfología de <i>Lactobacillus</i> (II generación) .....	29
4.2.1.3	Pruebas de Tinción de Gram .....	30
4.2.1.4	Segunda siembra bacteriológica (III Generación) .....	31
4.2.1.5	Tercera siembra bacteriológica (IV Generación) .....	31
4.2.1.6	Tinción de Gram y prueba de catalasa para la IV Generación .....	32
4.2.2	Fermentación del lactosuero íntegro y lactosuero enriquecido .....	32
4.2.3	Determinación del rendimiento estimado de biomasa de <i>Lactobacillus</i> .....	34
4.2.4	Determinación de la productividad de biomasa de <i>Lactobacillus</i> .....	35
4.3	Determinación de la tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) de biomasa de <i>Lactobacillus</i> .....	35
V.	<b>ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b> .....	37
5.1	Propiedades de la leche, queso fresco y lactosuero de cabra .....	37
5.1.1	Propiedades físico-químicas y composición de micro y macro nutrientes de la leche de cabra .....	37
5.1.2	Propiedades físico-químicas y composición de micro y macro nutrientes queso fresco de cabra .....	37
5.1.3	Propiedades físico-químicas y composición de micro y macro nutrientes del lactosuero íntegro .....	38
5.2	Producción de biomasa de <i>Lactobacillus</i> a partir de lactosuero íntegro y lactosuero enriquecido como sustrato .....	39
5.2.1	Aislamiento de la cepa de trabajo .....	39
5.2.1.1	Primera siembra bacteriana (II generación) .....	39
5.2.1.2	Segunda siembra bacteriana (III generación) .....	40
5.2.1.3	Tercera siembra bacteriana (IV generación) .....	41
5.2.2	Fermentación del lactosuero íntegro (LSI) y del lactosuero enriquecido (LSE1 y LSE2) .....	41
5.2.2.1	Seguimiento de la acidez de la biomasa por medio del pH .....	41
5.2.2.2	Comportamiento del crecimiento de biomasa .....	43

5.2.3 Rendimiento estimado de biomasa de <i>Lactobacillus</i> .....	44
5.2.4 Productividad de biomasa de <i>Lactobacillus</i> .....	44
5.2.5 Tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) y ajuste de los datos experimentales con el modelo logístico para LSI.....	45
5.2.6 Tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) y ajuste de los datos experimentales con el modelo logístico para LSE1 .....	46
5.2.6 Tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) y ajuste de los datos experimentales con el modelo logístico para LSE2 .....	47
 VI. CONCLUSIONES .....	 49
VII. RECOMENDACIONES .....	50
BIBLIOGRAFÍA .....	59
ANEXOS.....	64
ANEXOS A: Equipos utilizados .....	65
ANEXOS B: Datos derivados de la caracterización físico-química de leche, queso y lactosuero íntegro de cabra.....	70
ANEXOS C: Datos derivados de la fermentación .....	76

## Lista de Tablas

Tabla	Título	Página
<b>Tabla 3.1</b>	Propiedades organolépticas de la leche de cabra	<b>5</b>
<b>Tabla 3.2</b>	Propiedades físicas y químicas de la leche de cabra	<b>5</b>
<b>Tabla 3.3</b>	Características generales del queso fresco de cabra	<b>7</b>
<b>Tabla 3.4</b>	Proteínas del queso fresco de cabra	<b>7</b>
<b>Tabla 3.5</b>	Componentes principales del lactosuero íntegro dulce y ácido	<b>8</b>
<b>Tabla 3.6</b>	Componentes del lactosuero íntegro dulce en base seca	<b>8</b>
<b>Tabla 3.7</b>	Características físico-químicas del lactosuero íntegro	<b>9</b>
<b>Tabla 3.8</b>	Proteínas hidrosolubles de lactosuero íntegro de cabra	<b>9</b>
<b>Tabla 4.1</b>	Descripción para los medios de fermentación	<b>33</b>
<b>Tabla 5.1</b>	Propiedades físico-químicas y composición de micro y macro nutrientes de la leche de cabra	<b>37</b>
<b>Tabla 5.2</b>	Propiedades físico-químicas y composición de micro y macro nutrientes del queso fresco de cabra	<b>38</b>
<b>Tabla 5.3</b>	Propiedades físico-químicas y composición de micro y macro nutrientes del lactosuero íntegro	<b>38</b>
<b>Tabla 5.4</b>	Concentración de acidez titulable en los medios	<b>43</b>
<b>Tabla 5.5</b>	Rendimiento estimado para la biomasa	<b>44</b>
<b>Tabla 5.6</b>	Productividad durante la fermentación	<b>45</b>
<b>Tabla B.1</b>	Determinación del rendimiento de queso de cabra	<b>70</b>
<b>Tabla B.2</b>	Valores obtenidos para la prueba de humedad	<b>70</b>
<b>Tabla B.3</b>	Valores obtenidos para la prueba de cenizas	<b>71</b>
<b>Tabla C.1</b>	Parámetros de estudio durante la fermentación de LSI	<b>76</b>
<b>Tabla C.2</b>	Parámetros de estudio durante la fermentación de LSE1	<b>77</b>
<b>Tabla C.3</b>	Parámetros de estudio durante la fermentación de LSE2	<b>78</b>
<b>Tabla C.4</b>	Costos para la producción de biomasa a partir de LSI	<b>82</b>
<b>Tabla C.5</b>	Costos para la producción de biomasa a partir de LSE1	<b>83</b>
<b>Tabla C.6</b>	Costos para la producción de biomasa a partir de LSE2	<b>84</b>

## Lista de Figuras

<b>Figura</b>	<b>Título</b>	<b>Página</b>
<b>Figura 4.1</b>	Medición de la masa de leche con picnómetro	<b>14</b>
<b>Figura 4.2</b>	Medición del pH de la leche de Cabra	<b>14</b>
<b>Figura 4.3</b>	Prueba de humedad de la leche de cabra	<b>15</b>
<b>Figura 4.4</b>	Muestras de leche de cabra en el desecador	<b>15</b>
<b>Figura 4.5</b>	Muestras calcinadas de leche de cabra	<b>16</b>
<b>Figura 4.6</b>	Muestras de leche calcinadas en el desecador	<b>17</b>
<b>Figura 4.7</b>	Proceso de elaboración del queso fresco de cabra	<b>19</b>
<b>Figura 4.8</b>	Medición del volumen desalojado por el queso fresco de cabra	<b>20</b>
<b>Figura 4.9</b>	Muestras calcinadas de queso de cabra	<b>21</b>
<b>Figura 4.10</b>	Muestras de queso calcinadas en el desecador	<b>23</b>
<b>Figura 4.11</b>	Medición del pH del lactosuero íntegro	<b>24</b>
<b>Figura 4.12</b>	Muestras calcinadas de lactosuero íntegro	<b>26</b>
<b>Figura 4.13</b>	Muestras de lactosuero íntegro calcinadas en el desecador	<b>26</b>
<b>Figura 4.14</b>	Toma de muestra de yogurt natural	<b>28</b>
<b>Figura 4.15</b>	Siembra bacteriológica en (a) placas de Petri y en (b) tubos inclinados	<b>29</b>
<b>Figura 4.16</b>	Frotis de muestras	<b>30</b>
<b>Figura 4.17</b>	Prueba de Tinción de Gram	<b>31</b>
<b>Figura 4.18</b>	Siembra bacteriológica en microaerofilia	<b>32</b>
<b>Figura 4.19</b>	Montaje del sistema de fermentación	<b>33</b>
<b>Figura 5.1</b>	Crecimiento bacteriológico (a) tubo inclinado y (b) placa Petri de <i>Lactobacillus</i> a partir de yogurt griego	<b>39</b>
<b>Figura 5.2</b>	Vista en el microscopio	<b>40</b>
<b>Figura 5.3</b>	Vista en el microscopio después de la tinción de Gram	<b>40</b>
<b>Figura 5.4</b>	Vista en el microscopio de <i>Lactobacillus</i> aislados	<b>41</b>
<b>Figura 5.5</b>	Seguimiento del pH	<b>42</b>
<b>Figura 5.6</b>	Comportamiento del crecimiento de biomasa	<b>43</b>

<b>Figura 5.7</b>	Ajuste lineal de crecimiento para LSI	<b>45</b>
<b>Figura 5.8</b>	Ajuste con el modelo logístico en la etapa de crecimiento para LSI	<b>46</b>
<b>Figura 5.9</b>	Ajuste lineal de crecimiento para LSE1	<b>46</b>
<b>Figura 5.10</b>	Ajuste con el modelo logístico en la etapa de crecimiento para LSE1	<b>47</b>
<b>Figura 5.11</b>	Ajuste lineal de crecimiento para LSE2	<b>47</b>
<b>Figura 5.12</b>	Ajuste con el modelo logístico en la etapa de crecimiento para LSE2	<b>48</b>
<b>Figura A.1</b>	Balanza analítica de 6000 gramos y $d = 0,1$	<b>65</b>
<b>Figura A.2</b>	Mufla	<b>65</b>
<b>Figura A.3</b>	pH-metro	<b>66</b>
<b>Figura A.4</b>	Horno	<b>66</b>
<b>Figura A.5</b>	Espectrofotómetro	<b>67</b>
<b>Figura A.6</b>	Autoclave	<b>67</b>
<b>Figura A.7</b>	Incubadora	<b>68</b>
<b>Figura A.8</b>	Plancha térmica y agitadora	<b>68</b>
<b>Figura A.9</b>	Lámpara germicida UV	<b>69</b>
<b>Figura A.10</b>	Microscopio	<b>69</b>
<b>Figura C.1</b>	Comportamiento de la absorbancia para LSI	<b>79</b>
<b>Figura C.2</b>	Comportamiento de la absorbancia para LSE1	<b>80</b>
<b>Figura C.3</b>	Comportamiento de la absorbancia para LSE2	<b>80</b>
<b>Figura C.4</b>	Seguimiento de la concentración de biomasa de <i>Lactobacillus</i> para cada medio de fermentación.	<b>81</b>

## I. Introducción

En Nicaragua la mayor producción de leche es obtenida a partir de ganado bovino, sin embargo existe la posibilidad de poder aprovechar la leche de cabra, por esto la producción caprina se ha incrementado en la actualidad explotando zonas y regiones anteriormente no aprovechadas en nuestro país (Lima, 1998). El atractivo del que gozan los productos derivados de la leche de cabra generalmente está relacionado con productos gourmet, gracias al incomparable sabor de la leche y sus características específicas como el color, textura y calidad nutritiva, por tanto se puede aprovechar como un alimento sano, así como un negocio ampliamente lucrativo.

La leche de cabra producida en Estelí, León y Masaya, posee un amplio valor agregado por medio de la elaboración de quesos, cuajadas, yogurt y otros productos (La Prensa, 2004). En la elaboración de queso aproximadamente del 85% al 90% de la leche utilizada es eliminada como lactosuero, que contiene 55% del total de ingredientes conteniendo proteínas solubles, lactosa, lípidos y sales minerales como potasio, fósforo, sodio y magnesio (Parra, 2008). Por esta razón el lactosuero representa un atractivo subproducto con amplio potencial en la industria alimentaria.

Aunque los derivados de leche de cabra han logrado ser un éxito aceptable en nuestro país, los productores poseen pocos conocimientos sobre la tecnología adecuada para lograr mejorar la eficiencia de los procesos de producción y se basan generalmente en procesos artesanales, tampoco cuentan con asesoría para el manejo y uso de los subproductos como el lactosuero, materia prima con amplio potencial.

El lactosuero es un subproducto poco aprovechado, se considera un problema ambiental, debido a la alta demanda bioquímica de oxígeno que requiere para su degradación, por su uso inadecuado resulta siendo un contaminante al ser vertido mayormente en ríos (Espinoza, 2002), y alcantarillados del sistema público (Pérez, 2003).

En países latinoamericanos como México, Venezuela, Colombia, entre otros, se han realizado diversos estudios antecediendo a esta problemática. Según (Aguirre, y otros, 2008): “existe una alta factibilidad técnica de producción de dos posibles productos con alto valor agregado a partir de lactosuero de cabra: siendo estos la proteína liofilizada de alta solubilidad y la biomasa probiótica de *Lactobacillus casei* liofilizada a partir del lactosuero de cabra descremada por ultrafiltración, se recupera como retenido una fracción rica en proteína (relación proteína/carbohidratos de 7:1) y como permeado, una fracción rica en lactosa”.

Según (Jakymec, y otros, 2001): encontraron que “la biomasa de *Lactobacillus bulgaricus*”, creció con un alto rendimiento en el lactosuero, el cual disminuyó al

incrementar la concentración de lactosa en el medio y el microorganismo no fue capaz de consumir totalmente la lactosa del medio".

Según (Leon, y otros, 2013): "la cepa de *Lactobacillus* con propiedad probiótica obtenida del pulque se desarrolla óptimamente en leche entera con sales micronutrientes de la formulación MRS al 10% p/v, 7% p/v lactosa, pH de  $6,4 \pm 2$  a  $29^{\circ}\text{C} \pm 1$ , en microaerobiosis".

Por otro lado, el lactosuero de cabra desproteinizado es un sustrato adecuado para obtener concentraciones en el orden de 3 a 4 g/L de biomasa probiótica de *Lactobacillus casei* (Aguirre, y otros, 2008).

La biomasa de *Lactobacillus* tiene un enfoque nutricional muy amplio, son organismos benéficos de interés particular por su larga historia de uso en la producción de alimentos y para la preservación de estos. La producción de biomasa *Lactobacillus* establecerían en nuestro país nuevas expectativas y visiones de procesos de producción, ampliando hacia en desarrollo continuo, dinámico y conjunto de Nicaragua, al poder aprovechar el lactosuero de una manera viable y sostenible.

El propósito de este trabajo se basa en la producción de biomasa de *Lactobacillus* a partir de lactosuero de cabra a escala de laboratorio, debido a que pocas especies de animales como las cabras presentan tanto potencial a nivel mundial, la adaptabilidad a varios climas, condiciones geográficas y de manejo, junto al superior valor nutritivo que presenta su leche con respecto a la de otros mamíferos la hacen idónea para su explotación (Sánchez, 2005), y así poder establecer una vía sustentable para el aprovechamiento del lactosuero de cabra.

Al realizar este trabajo investigativo se pretende estudiar la producción de biomasa de *Lactobacillus* a partir de lactosuero de cabra como medio de crecimiento, mediante la implementación del modelo logístico.



## II. Objetivos

### 2.1 Objetivo General:

- Estudiar la producción de biomasa de *Lactobacillus* mediante fermentación microbiana a partir de lactosuero de cabra, a escala de laboratorio.

### 2.2 Objetivos específicos:

- Caracterizar las propiedades físico-químicas y determinar la composición de micro y macro nutrientes de la leche, queso y lactosuero íntegro de cabra.
- Producir biomasa de *Lactobacillus* a partir de lactosuero íntegro y lactosuero enriquecido, para determinar el rendimiento estimado, la productividad promedio y la tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) implementando el modelo logístico.

### **III. Marco teórico**

#### **3.1 Microbiología industrial**

La microbiología industrial es la parte de la microbiología que se ocupa de las aplicaciones industriales de los microorganismos, de acuerdo a (Serrano, 2006) las áreas de aplicación de la microbiología industrial son muy variadas y de ellas surge la importancia y el impacto que tiene esta disciplina en la actualidad, las áreas principales son: salud, producción vegetal y animal, insumos industriales, minería, servicios y alimentos. En la producción de alimentos se tiene: la producción del vino, pan o cerveza, suplementos dietéticos (como los cultivos de algas, vitaminas o aminoácidos) y producción de biomasa a partir de desechos industriales, orientada al desarrollo de productos farmacéuticos, alimenticios y cosméticos, entre otras. (González, 2012).

#### **3.2 La leche de cabra**

La leche de cabra es más blanca que la leche de vaca y de sabor más fuerte, su materia grasa contiene menos colesterol que la leche de vaca y resulta más digerible. Tiene bajo aporte calórico debido a la cantidad de hidratos de carbono y grasas que contiene, aporta proteínas de muy buena calidad (Diccionario Gastronómico, 2006).

Es homogenizada naturalmente ya que sus glóbulos grasos son de un tamaño muy reducido (1 a 3 micras), formando una mejor emulsión lo que permite formar coágulos de granulación fina y suave realizando una más fácil digestión (Castro, 2010).

##### **3.2.1 Características generales de la leche de cabra**

La leche de cabra es un líquido de color blanco mate, sabor ligeramente azucarado y de olor poco acentuado. Sus propiedades físicas, químicas y organolépticas son muy complejas, y de modo esquemático se puede considerar como una emulsión de materia grasa en una solución acuosa que contiene numerosos elementos; unos en disolución y otros en estado coloidal (Quiles, y otros, 2012).

Las principales propiedades organolépticas que caracterizan la leche de cabra, desde un punto de vista comercial, son el color, el sabor y el olor, mostradas en la Tabla 3.1.

**Tabla 3.1:** Propiedades organolépticas de la leche de cabra

Propiedades	Características
Olor	Recién ordeñada suele ser neutro, al final de la lactación, aparece un olor característico llamado cáprico, debido en gran parte a los ácidos grasos caprónico, cáprico y caprílico, característicos de la leche de cabra.
Sabor	Suele ser dulzón por la lactosa agradable y muy particular, lo cual hace que sea bastante fácil su identificación.
Color	Blanco mate contrariamente a la leche de vaca, por su ausencia en 13-carotenos.

Fuente: (Quiles, y otros, 2012).

Entre los componentes químicos más abundantes de la leche de cabra se encuentran el agua, glúcidos, lípidos, sustancias nitrogenadas, nitrógeno no protéico y sales minerales. En cambio las características físicas de mayor interés son el pH, densidad y acidez. Ambas propiedades se detallan en la Tabla 3.2.

**Tabla 3.2:** Propiedades físicas y químicas de la leche de cabra

Propiedades Físicas			Propiedades Químicas		
Propiedad	Valor	Unidades	Nutrientes	Valor	Unidades
Acidez	14-16	Dornic (°D)	Agua	87,1	g/por cada 100 g de leche
Conductividad eléctrica a 25 °C	$52 \times 10^{-4}$ - $62 \times 10^{-4}$	mhos/cm	Glúcidos (lactosa)	4,60	
Densidad a 25 °C	1,026-1,042	g/ml	Lípidos	4,30	
pH	6,3 – 6,8	-	Sustancias nitrogenadas	3,30	
Punto de congelación	- 0,580	°C	Caseínas	2,47	
Tensión superficial a 20 °C	52	dinas/cm	Proteínas del lactosuero	0,56	
Viscosidad a 27 °C	1,34	Centipoise	Nitrógeno no proteico	0,27	
			Sales minerales	0,70	

Fuente: (Roca, 2012) y (Quiles, y otros, 2012).

### **3.3 Queso fresco de cabra**

El queso es un alimento de amplio consumo a nivel mundial, cuyas características nutritivas, funcionales, texturales y sensoriales difieren entre cada tipo, se estiman aproximadamente más de 2000 variedades de queso entre maduros, semi maduros y quesos frescos. En el caso particular de estos últimos son quesos sin fermentación o con fermentación láctica natural que se consumen frescos o en un período de 15-20 días (Ramirez Lopez, y otros, 2003).

El típico queso fresco de cabra es un queso de pasta firme, de color blanco intenso, con un delicado salado que lo hace agradable al paladar, levemente granular, preparado con leche de cabra entera, semidescremada, coagulada con enzimas y/o ácidos orgánicos, generalmente sin cultivos lácticos. También se designa con el nombre de queso blanco. La producción de queso fresco de cabra consiste esencialmente en la obtención de la cuajada, que no es más que la coagulación de la proteína de la leche (caseína) por la acción de la enzima rennina o cuajo (González Villarreal, 2002).

#### **3.3.1 Elaboración de queso fresco de cabra**

Para la elaboración de queso de cabra es necesario llevar a cabo un conjunto de etapas que se describen a continuación:

**Filtrado:** esta etapa se realiza para eliminar posibles impurezas procedentes del ordeño, almacenamiento y transporte de la leche de cabra (Punguil, 2010).

**Pasteurización de la leche:** la leche se calienta a 65°C por un tiempo aproximado de 15 minutos con el objetivo de eliminar la presencia de microorganismos patógenos que se puedan encontrar en la leche (Sanchez, 1992).

**Coagulación de la leche:** el cuajo que se utiliza es un preparado comercial en forma de pastillas que contiene enzimas (principalmente rennina) presentes en el cuajar de crías lactantes (Sanchez, 1992). Se adiciona en relación 51 g/440 L de leche.

**Desuerado del queso:** una vez concluida la etapa de coagulación, el lactosuero íntegro se separa del queso mediante corte y prensado (Sanchez, 1992).

**Salado:** la sal proporciona al queso un mejor sabor y merece indicarse también que mediante la salazón es posible, igualmente, conseguir una mejor y más rápida formación de corteza (Matallana, 1952). Se adiciona generalmente en relación 3% en peso referente al peso de la cuajada.

**Prensado y moldeado:** ayuda a que se produzca la expulsión final del lactosuero salado, con esta etapa se logra darle forma definida al queso antes del proceso de empaque (Sanchez, 1992).

**Empaque y Almacenamiento:** una vez moldeado el queso se procede al empaque y se almacena a temperaturas de refrigeración 5-10°C, en el caso de quesos frescos (Sanchez, 1992).

### 3.3.2 Características generales del queso fresco de cabra

El queso fresco de cabra presenta las propiedades generales de la leche de cabra, algunas de las cuales son acentuadas por su proceso de elaboración, al contener menos agua que la leche es más rico en materia grasa y proteínas, su contenido de minerales es elevado. Estas características se detallan en la Tabla 3.3.

**Tabla 3.3:** Características generales del queso fresco de cabra

Componentes	Valor	Unidades
Densidad	-	g/ml
Humedad	57,62	% p/p
Cenizas	2,08	% p/p
Proteínas	17,4	% p/p
Grasas Totales	21,8	% p/p
Azúcares Totales	1,1	% p/p

Fuente: (Salgado, 2010) y (Cuadra, 2015)

### 3.3.3 Proteínas del queso fresco de cabra

Se distinguen tres tipos:  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\kappa$  caseínas respectivamente, mostrada en la Tabla 3.4.

**Tabla 3.4:** Proteínas del queso fresco de cabra

Proteínas	Valor	Unidades
$\alpha$ -caseína	21,2	%p/p
$\beta$ -caseína	61,4	
$\kappa$ -caseína	17,4	

Fuente: (Goycoolea , y otros, 2012)

### 3.4 El lactosuero íntegro de cabra

El lactosuero íntegro de cabra es un subproducto de la elaboración de quesos que es rico en lactosa, mientras que el queso es rico en grasa y proteínas. El lactosuero íntegro se produce en forma líquida y su composición depende del tipo de leche utilizada y del tipo de queso que se está elaborando (Alley, 1999).

Existen dos tipos de lactosuero íntegro, dulce y ácido. El primero se obtiene por coagulación enzimática utilizando para ello un cuajo de procedencia animal o vegetal, mientras que el lactosuero ácido se genera por acidificación natural de la leche o por la adición de ácidos orgánicos. Según (Mejia, 2010) ambos tipos de lactosuero tienen características físico-químicas similares, sin embargo el lactosuero íntegro dulce de cabra es el mayormente generado en la elaboración de queso de cabra, y por ende el de mayor aplicación industrial y utilizado para esta investigación.

### 3.4.1 Composición de lactosuero íntegro

El lactosuero íntegro de cabra contiene principalmente: agua, proteínas, lactosa, minerales, grasas y cenizas. En la Tabla 3.5 se presentan los principales componentes del lactosuero íntegro dulce y ácido.

**Tabla 3.5:** Componentes principales del lactosuero íntegro dulce y ácido

Componentes	Lactosuero dulce (%p/p)	Lactosuero ácido (%p/p)
Sólidos totales	6,61	6,40
Lactosa	4,71	5,07
Proteína	0,77	0,53
Grasa	0,51	0,03
Cenizas	0,61	0,76
Nitrógeno no proteico	0,05	0,06
Agua	93,39	93,6

Fuente: (Sanmartin, 2010).

En la Tabla 3.6 se muestra los contenidos de los principales componentes del lactosuero íntegro dulce en base seca:

**Tabla 3.6:** Componentes del lactosuero íntegro dulce en base seca

Componente	Composición porcentual (% p/p)
Lactosa	70-75
Proteínas	8-11
Minerales	10-15
Grasas y Vitaminas	10-12

Fuente: (Sanmartin, 2010)

#### 3.4.1.1 Características físico-químicas y valor nutritivo del lactosuero íntegro

Las características físico-químicas de un producto son esenciales para determinar su estándar de calidad dentro de la industria alimentaria y

específicamente de la industria láctea para el caso del lactosuero íntegro. Las características más importantes se reflejan en la Tabla 3.7.

**Tabla 3.7:** Características físico-químicas del lactosuero íntegro

Características	Valor	Unidades	Observaciones
Humedad	95-99	% p/v	Porcentaje de agua presente en el lactosuero
Acidez	16-19	Grados Dornic	Un grado Dornic equivale a 0,1 g/L de ácido láctico ó 0,01%
Densidad	1,027-1,029	g/ml	A 20 °C
Cenizas	6,1	g/L	Residuos inorgánicos
pH	6,3 – 6,7	-	-
Viscosidad	1,2	Centipoise	A 20 °C

Fuente: (Chacón, 2005), (González, 2011) y (Negri, 2005).

### 3.4.1.2 Proteínas de lactosuero íntegro y su importancia

Se denominan también séricas y se pierden en la elaboración del queso en el lactosuero íntegro y se desnaturalizan por los tratamientos térmicos para la conservación de la leche, las principales proteínas séricas son la  $\beta$ -lactoglobulina, la  $\alpha$ -lactalbúmina, inmunoglobulinas, la seroalbúmina y las proteosomas peptonas mostradas en la Tabla 3.8.

**Tabla 3.8:** Proteínas hidrosolubles de lactosuero íntegro de cabra

Proteínas	Concentración en lactosuero (g/L)	%	PM (kg/kmol)	PI	T desnat (°C)
$\beta$ -lactoglobulina	2-4	48-58	18	5,4	82
$\alpha$ -lactalbúmina	0,6-1,7	13-19	14	4,4	61
Glicomacropéptido	1,5	12-20	8.6	<3,8	-
Proteosomas peptona	0,2-0,4	6	4-80	5,1-6,0	-
Seroalbúmina	0,2-0,4	6	66-69	4,8-5,1	66
Inmunoglobulinas	0,5-1,0	8-12	150-1000	5-8	72
Lactoferrina	0,1	2	77	7,9	-
Lactoperoxidasa	0,03	0.5	78	9,6	-

Fuente: (Sanmartín, 2010)

Las proteínas del lactosuero íntegro no constituyen la fracción más abundante, pero es la más interesante en los terrenos económico y nutricional, estas proteínas poseen amplio rango de propiedades químicas, físicas y organolépticas, gracias a estas características pueden desempeñar papeles muy



importantes en la industria de los alimentos para la producción de concentrados de proteína, formulas infantiles, alimentos para la salud y productos gelificados (Parra, 2008).

### **3.4.2 Aplicación industrial del lactosuero íntegro**

En la actualidad existen empresas dedicadas a la producción, venta y exportación de ovejas y cabras que están elaborando concentrados de proteína a partir lactosuero íntegro de cabra, estos concentrados tienen una composición química similar a la leche humana, además de una alta entrada de nutrientes fortalece el sistema inmunológico y activa el metabolismo (Van Hees, 1999).

### **3.4.3 Lactosuero enriquecido**

Generalmente cuando se utiliza lactosuero íntegro como medio de cultivo para la reproducción de microorganismos, dichos medios suelen enriquecerse con fuentes adicionales como carbono (fuente energía), nitrógeno, cloruro de calcio, sulfato de hierro, ácido fosfórico, hidróxido de potasio, sulfato de magnesio, ácido cítrico, sulfato de amonio, extracto de levadura e incluso lactosa, esto se realiza con el objetivo de poder crear un ambiente idóneo para el crecimiento de microorganismo tales como levaduras, bacterias, hongos y algas (García , y otros, 2013).

## **3.5 Biomasa de *Lactobacillus* a partir de lactosuero de cabra**

La biomasa a partir de lactosuero, es una masa biológica que abarca un gran conjunto de materias orgánicas que se obtienen por medio de un proceso biológico (fermentación) que puede ser espontaneo o controlado y que en su contenido se encuentran un sin número de microorganismos entre ellos levaduras, mohos, bacterias y algas (Zumbado, y otros, 2006).

La familia de *Lactobacillus* consta de 14 tipos de especies, con afinidad a los medios ácidos (pH entre 4-5 o menor) y temperaturas óptimas de crecimiento de 30-45 °C, son bacterias Gram positivas y se encuentra en la microflora intestinal, la boca y vagina de animales y humanos, sin embargo se puede reproducir a partir de la fermentación en lactosuero para lograr el crecimiento de esta familia (Faro, 1999).

### **3.5.1 Proceso de obtención de la biomasa de *Lactobacillus***

El proceso de producción de biomasa es una vía biotecnológica adecuada para el aprovechamiento de desechos industriales ricos en carbohidratos, para la obtención de biomasa el sustrato utilizado es generalmente lactosuero como medio para el crecimiento de microorganismos y el proceso se realiza vía fermentación, durante este proceso se puede aplicar agitación y se controlan las variables de operación, así como la cinética de reacción.

Al final de la fermentación se puede aplicar centrifugación para separar la biomasa del medio, con la biomasa húmeda se puede aplicar cualquier método de secado para una mejor presentación. Para cuantificar la cantidad de biomasa se aplica espectrofotometría a partir de un patrón. Para la generación de biomasa a partir de lactosuero es posible el empleo de varios tipos de levaduras: *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus* y *Candida kefyr* entre otras (Zumbado, y otros, 2006).

### 3.5.2 Proceso fermentativo de *Lactobacillus*

Los *Lactobacillus* presentan particularidades respecto a los requerimientos nutricionales para su reproducción, requieren no sólo carbohidratos como fuentes de carbono y energía, sino también: aminoácidos, vitaminas y nucleótidos. En el proceso de fermentación se reproducen por fisión binaria alimentándose de lactosa para generar como producto final ácido láctico (Samaniego, y otros, 2008). En el seguimiento del proceso fermentativo se distingue cuatro etapas:

- Fase de adaptación: fase de latencia después de la inoculación, la población permanece sin variaciones, las células crecen en volumen y se sintetizan enzimas, proteínas y RNA; por último tiene lugar un incremento de la actividad metabólica (Virto, 2013).
- Fase exponencial: las bacterias se dividen por fisión binaria, crecen en número de forma exponencial y se dividen a ritmo constante (Virto, 2013).
- Fase estacionaria: el crecimiento exponencial se detiene, está limitado por la falta de nutrientes, la acumulación de metabolitos inhibitorios y la falta de espacio (Virto, 2013).
- Fase de muerte o decaimiento: se produce una reducción del número de bacterias viables de cultivo, para una célula microbiana, la muerte significa la pérdida irreversible de su potencial reproductivo (Parajon, 2001).

#### 3.5.2.1 Parámetros que afectan el proceso de fermentación

El proceso fermentativo depende de un conjunto de factores entre los más importantes:

- Temperatura: para cada microorganismo existe una temperatura mínima por debajo de la cual no es posible el crecimiento, una temperatura óptima a la que se produce el crecimiento más rápido y una temperatura máxima por encima de la cual no es posible el crecimiento (Virto, 2013).
- pH : en general los microorganismos no pueden tolerar valores extremos de pH, en condiciones alcalinas o ácidas se hidrolizan algunos

componentes microbianos o se desnaturalizan algunas enzimas, cada organismo tiene un rango de pH dentro del cual es posible el crecimiento y posee un pH óptimo. La mayoría crece en un margen de variación de 2 a 3 unidades de pH (Virto, 2013).

- Actividad de Agua: para los microorganismos el factor crítico es la disponibilidad de agua líquida más que la cantidad total de agua presente en el ambiente. El total de agua realmente disponible para uso microbiano se expresa como actividad de agua ( $a_w$ ), los solutos presentes en el medio compiten por el agua y la fijan, disminuyendo la cantidad disponible para los microorganismos (Virto, 2013).
- Oxígeno: los microorganismo aeróbicos se distingues en tres tipos: estrictos, facultativos y microaerófilos, los primeros necesariamente requieren de oxígeno para su reproducción, en el caso de los facultativos no es necesario pero crecen mejor en presencia de  $O_2$  y los microaerofilos lo necesitan a bajas tensiones (Virto, 2013).

### 3.5.3 Cinética de crecimiento de la biomasa de *Lactobacillus*

El crecimiento celular engloba la conversión metabólica de un sustrato en subproductos, lo que hace que se libere energía en forma de ATP (ruta catabólica), que será utilizada para la síntesis celular (ruta anabólica). La cantidad de masa celular, o biomasa formada, es proporcional a la cantidad de sustrato y de producto.

El conocimiento de la cinética de un cultivo permite la predicción del transcurso de la fermentación, la evaluación de velocidades, rendimientos y productividades, esto entrega información útil para establecer estrategias de producción y optimización del proceso (Dos Santo, 2007).

### 3.5.4 Importancia de la biomasa de *Lactobacillus*

La industria alimentaria ha mostrado interés en el uso de biomasa de *Lactobacillus*, por el efecto beneficioso que estos microorganismos tienen sobre la salud del consumidor, dicho efecto puede deberse a productos resultantes de su actividad microbiana, este es el caso de los péptidos bioactivos generados en el proceso de proteólisis, o a los microorganismos en si, como ocurre en los alimentos probióticos (Olivera, 2011).

También la biomasa de *Lactobacillus* tiene gran importancia como suplemento proteico en alimentación animal, además, se ha investigado su utilización en la fabricación de ingredientes funcionales, suplementos proteicos, para resaltar el sabor de alimentos procesados, entre otros (Zumbado, y otros, 2006).

#### **IV. Metodología de trabajo**

El presente estudio planteó la producción de biomasa de *Lactobacillus* mediante fermentación microbiana, utilizando lactosuero de cabra íntegro y lactosuero enriquecido como medio de crecimiento, el inóculo para el proceso de fermentación se obtuvo mediante el aislamiento de cepas del género *Lactobacillus*.

La producción de biomasa de *Lactobacillus* a partir de lactosuero de cabra se llevó a cabo en el laboratorio de alimento, laboratorio de operaciones unitarias, laboratorio de ingeniería ambiental y laboratorio de química, todos pertenecientes a la Facultad de Ingeniería Química, en la Universidad Nacional de Ingeniería (UNI), Avenida Universitaria Managua-Nicaragua.

##### **4.1 Determinación de propiedades físico-químicas y composición de micro y macro nutrientes de la leche, queso fresco y lactosuero íntegro de cabra**

La leche de cabra se adquirió en la finca San Antonio ubicado en Jinotepe, Carazo, el volumen total obtenido fue de 28 litros de leche de cabra y se trasladaron en recipientes herméticos a la Universidad Nacional de Ingeniería, donde se le realizaron los análisis físico-químicos descritos a continuación, y luego se elaboró el queso fresco y se obtuvo el lactosuero íntegro a escala de laboratorio que fue utilizado para el proceso de fermentación.

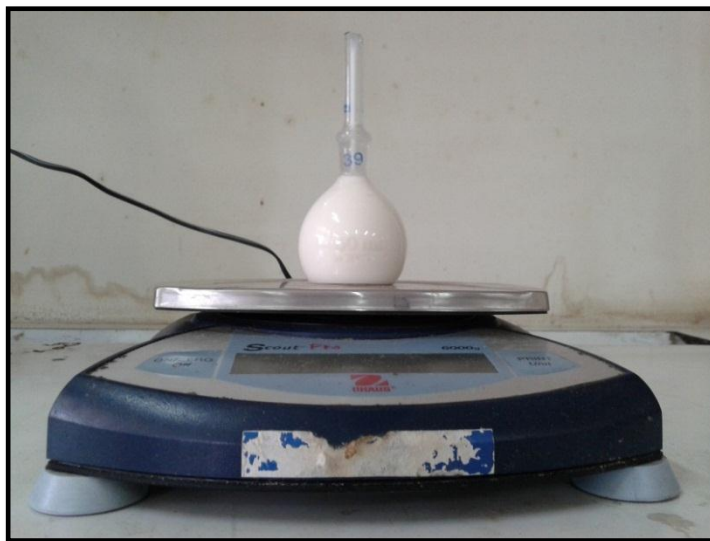
Para determinar las propiedades físico-químicas y composición de micro y macro nutrientes se tomó como referencia las normas AOAC (Asociación Oficial de Químicos Analistas) y las Normas Técnicas Ecuatorianas (NTE).

##### **4.1.1 Propiedades físico-químicas de la leche de cabra**

Los análisis físico-químicos que se le realizaron a la leche de cabra se detallan a continuación:

##### **4.2.1.1 Determinación de la densidad de la leche de cabra**

La densidad de la leche de cabra, se midió haciendo uso del método del picnómetro a 20 °C según la norma técnica ecuatoriana (NTE INEN 0011, 1984) como se muestra en la Figura 4.1, para esto se pesaron los picnómetros de 50 ml limpio y seco en una balanza analítica (OHAUS, modelo: Scout® pro sp6001, ver anexo A, Figura A.1), se agregó la muestra de leche de cabra a cada uno de ellos, y se pesaron nuevamente. Posteriormente se calculó la densidad con la ecuación 4.1. El procedimiento se realizó por triplicado para obtener una media aritmética.



**Figura 4.1:** Medición de la masa de leche con picnómetro

$$\delta_L = \frac{m_{pL} - m_p}{V_L} \quad (4.1)$$

Dónde:  $\delta_L$  es la densidad de la leche de cabra (g/ml),  $m_{pL}$  es la masa del picnómetro con leche de cabra (g),  $m_p$  es la masa del picnómetro vacío (g) y  $V_L$  corresponde al volumen de leche de cabra (ml).

#### 4.2.1.2 Determinación de pH de la leche de cabra

Para determinar el pH de la leche de cabra, se utilizó un pH-metro (OAKTON, modelo 510 series, ver anexo A, Figura A.3), colocando muestras de 10 ml de leche en tres beaker de 25 ml a como se refleja en la Figura 4.2. Estas lecturas se realizaron por triplicado y luego se calculó una media aritmética.



**Figura 4.2:** Medición del pH de la leche de Cabra

#### 4.2.1.3 Determinación de humedad de la leche de cabra

Para determinar el contenido de humedad se aplicó el método indirecto de desecación, que consiste en colocar tres muestras de 10 gramos de leche de cabra en capsulas de aluminio y posteriormente fueron introducidas en un horno de bandejas (THERMOSTATIC OVEN, modelo: M710, ver anexo A, Figura A.4) previamente precalentado durante cuatro horas a una temperatura de 105 °C, para evaporar el agua contenida en la muestra como se observa en la Figura 4.3, ubicado en el laboratorio de alimentos.

Posteriormente las muestras se colocaron en un desecador como se observa en la Figura 4.4, hasta alcanzar la temperatura ambiente y se tomó el peso, esto se repitió hasta que se alcanzó un valor constante del peso. La masa de agua evaporada se determinó por medio de la ecuación 4.2. Se trabajó con tres muestras para obtener una media del valor de humedad.



**Figura 4.3:** Prueba de humedad de la leche de cabra



**Figura 4.4:** Muestras de leche de cabra en el desecador



$$m_{ae} = m_{mL} - m_s \quad (4.2)$$

Donde:  $m_{ae}$  es la masa de agua evaporada (g) de la leche,  $m_{mL}$  es la masa de la muestra de leche (g) y  $m_s$  corresponde a la masa de materia seca (g).

El contenido de humedad para la leche de cabra se determinó con la ecuación 4.3.

$$H_L = \frac{m_{ae}}{m_{mL}} \times 100 \quad (4.3)$$

Donde:  $H_L$  es el contenido de humedad en la leche de cabra (% p/p).

#### 4.2.2 Determinación de micro y macro nutrientes de la leche de cabra

Los micro y macro nutrientes de la leche de cabra determinados son: la ceniza, contenido de grasa, azúcares totales y proteínas, a continuación se describen cada uno de los procedimientos y métodos utilizados para cada uno de los componentes.

##### 4.1.2.1 Determinación de cenizas de la leche de cabra

La determinación del contenido de cenizas (micronutriente) presente en la leche requirió de la implementación del método de calcinación para aproximar la cantidad de materia inorgánica (minerales) presente en las muestras.

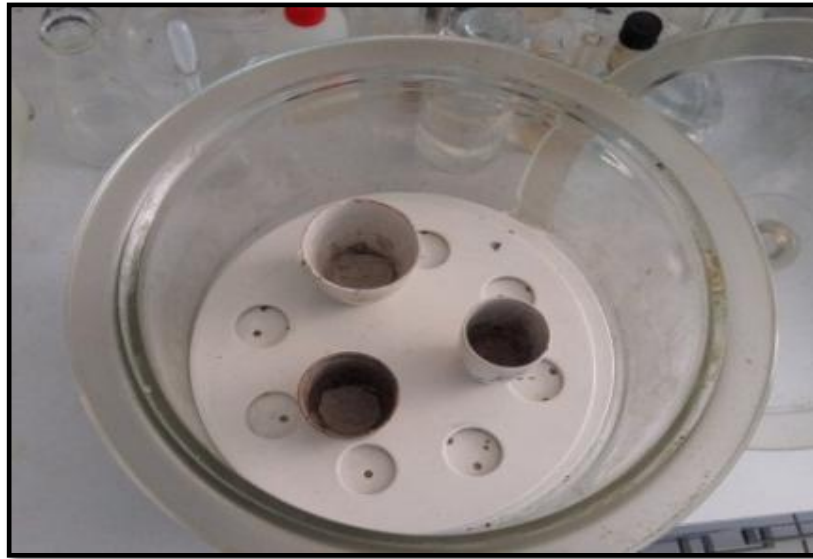
El procedimiento consistió en tomar tres muestras de 10 gramos de leche de cabra, fueron colocadas en capsulas de porcelana (previamente pesada) e introducidas en una mufla (Thermolyne, Barnstead modelo: FB1415M, ver anexo A, Figura A.2) durante dos horas a 550 °C, como se muestra en la Figura 4.5.



**Figura 4.5:** Muestras calcinadas de leche de cabra



Posteriormente se procedió a colocar las muestras calcinadas en el desecador como se muestra en la Figura 4.6, hasta alcanzar la temperatura ambiente y se tomó el peso, esto se repitió hasta que se alcanzó un valor constante del peso.



**Figura 4.6:** Muestras de leche calcinadas en el desecador

La masa de cenizas contenida en las muestras de leche, se determinó con la ecuación 4.4

$$m_{cL} = m_a - m_b \quad (4.4)$$

Donde:  $m_{cL}$  es el peso de la cenizas de la leche de cabra,  $m_a$  es el peso de la capsula con cenizas y  $m_b$  es el peso de la capsula vacía, todo expresado en gramos.

El porcentaje de cenizas, se calculó con la ecuación 4.5.

$$C_L = \frac{m_{cL}}{m_{mL}} \times 100 \quad (4.5)$$

Donde:  $C_L$  corresponde a la composición de cenizas presente en la leche de cabra (%p/p),  $m_{cL}$  es la masa de cenizas de la leche de cabra (g) y  $m_{mL}$  es la masa de la muestra de leche de cabra (g).

#### **4.1.2.2 Determinación de grasas de la leche de cabra**

La determinación de grasa (macronutriente) en la leche de cabra se realizó mediante el método Babcock, en el laboratorio de alimentos del MIFIC (LABAL), donde se entregaron tres muestras de 500 gramos para su análisis. El método se fundamenta en medir directamente el contenido de grasa en un butirómetro, que al mezclarse la grasa de la leche con ácido sulfúrico en proporciones determinadas, provoca la precipitación de los constituyentes de la leche a

excepción de la grasa, posteriormente se centrifuga para poder leer el contenido de grasa en el butirómetro (Gómez, 2006). El resultado reportado por el LABAL (ver Anexo B.4) se denota como  $G_L$  (contenido de grasa presente en la leche expresado en %p/p).

#### 4.1.2.3 Determinación de proteínas de la leche de cabra

La determinación de proteína (macronutriente) en la leche de cabra se realizó mediante el método Kjeldhal, en el laboratorio de alimentos (ver Anexo B.4) del MIFIC (LABAL), donde se entregaron 3 muestras de 500 gramos para su análisis. El principio de funcionamiento consiste en someter las muestras a digestión y calentamiento con ácido sulfúrico concentrado, descomponiendo el nitrógeno presente en las proteínas en iones de amonio en presencia de un catalizador (selenio, sulfato de cobre, sulfato de sodio, etc.), luego se alcaliniza la muestra con hidróxido de sodio para destilar la solución resultante, al destilado rico en amoniaco se mezcla con una solución de ácido bórico al 4% y un indicador mixto de rojo de metilo y verde de bromocresol, que luego es sometido a titulación con hidróxido de sodio 0,1 N (Gonzalez, 2011). A partir de esto, con la ecuación 4.6 se calculó el porcentaje de nitrógeno y con la ecuación 4.6a se calculó la concentración de la proteína contenida en la leche de cabra.

$$N_L = \frac{(T_L - B) \times 14.007 \times N \times 100}{m_{mL}} \quad (4.6)$$

$$P_L = N_L \times 6,38 \quad (4.6a)$$

Donde:  $N_L$  es el contenido de nitrógeno en la leche de cabra (%p/p),  $T_L$  es el volumen de hidróxido de sodio (ml) usado para titular la muestra de leche,  $B$  es el volumen de hidróxido de sodio (ml) usado para titular el blanco,  $N$  corresponde a la concentración del hidróxido de sodio (N), 6,38 es el factor de conversión para leche de cabra y sus derivados y  $P_L$  es el contenido de proteínas (%p/p).

#### 4.1.2.4 Determinación de azúcares totales de la leche de cabra

Los azúcares totales (macronutriente) presente en la leche de cabra se determinaron por diferencia, utilizando la ecuación 4.7.

$$A_{TL} = 100 - (H_L + C_L + P_L + G_L) \quad (4.7)$$

Dónde:  $A_{TL}$  corresponde al contenido de azúcares totales,  $H_L$  es el contenido de humedad,  $C_L$  es la composición de cenizas,  $P_L$  es el contenido de proteínas y  $G_L$  contenido de grasa, todos expresados en (%p/p) y presente en la leche de cabra.

#### 4.1.3 Determinación de las propiedades físico-químicas en el queso fresco de cabra

El queso fresco de cabra se obtuvo a escala de laboratorio a como se observa en la Figura 4.7, siguiendo las etapas detalladas en el acápite 3.2.1, y se le realizaron los análisis físico-químicos descritos a continuación:



**Figura 4.7:** Proceso de elaboración del queso fresco de cabra

##### 4.1.3.1 Determinación de la densidad aparente del queso fresco de cabra

La densidad aparente del queso fresco se midió haciendo uso del método de la probeta según la norma técnica ecuatoriana, sumergiendo una muestra de queso de 10 gramos previamente pesado en una balanza analítica (OHAUS, modelo: Scout® pro sp6001, ver anexo A, Figura A.1) en una probeta que contenía un volumen de 25 ml de agua destilada ( $V_0$ ), luego se leyó el volumen final en la probeta ( $V_f$ ) a como se muestra en la Figura 4.8, el volumen del queso se obtiene por medio de la ecuación 4.8. Los ensayos se realizaron por triplicado.

$$V_Q = V_f - V_0 \quad (4.8)$$

La densidad aparente del queso se calculó por medio de la ecuación 4.9.

$$\delta_Q = \frac{m_Q}{V_Q} \quad (4.9)$$

Dónde:  $\delta_Q$  es la densidad aparente del queso (g/ml),  $m_Q$  es la masa del queso (g),  $V_Q$  corresponde al volumen del queso (ml).



**Figura 4.8:** Medición del volumen desalojado por el queso fresco de cabra

#### 4.1.3.2 Determinación de humedad del queso fresco de cabra

Para determinar el contenido de humedad del queso se eliminó el agua presente en las muestras mediante el método indirecto de desecación en un horno de bandejas. El procedimiento se describe en el acápite 4.1.1.3.

Posteriormente las muestras fueron colocadas en un desecador, hasta que alcanzaron la temperatura ambiente y se tomó el peso, esto se repitió hasta que se alcanzó un valor constante del peso del material seco.

La masa de agua evaporada se determinó por medio de la ecuación 4.10.

$$m_{ae} = m_{mQ} - m_s \quad (4.10)$$

Donde:  $m_{ae}$  es la masa de agua evaporada (g) del queso,  $m_{mQ}$  es la masa de la muestra (g) de queso y  $m_s$  corresponde a la masa de materia seca (g).

El contenido de humedad para el queso de cabra se determinó con la ecuación 4.11.

$$H_Q = \frac{m_{ae}}{m_{mQ}} \times 100 \quad (4.11)$$

Donde:  $H_Q$  es el contenido de humedad en el queso fresco de cabra (% p/p).

#### 4.1.4 Determinación de micro y macro nutrientes del queso fresco de cabra

Los micro y macro nutrientes del queso fresco de cabra determinados son: la ceniza, contenido de grasa, azúcares totales y proteínas. A continuación, se describen cada uno de los procedimientos y métodos utilizados para cada uno de los componentes.

##### 4.1.4.1 Determinación de cenizas del queso fresco de cabra

Se determinó el contenido de ceniza en el queso fresco de cabra, utilizando el método de calcinación como se muestra en la Figura 4.9. El procedimiento se describe en el acápite 4.1.2.1 y el contenido de cenizas se calculó con la ecuación 4.12.

$$m_{cQ} = m_a - m_b \quad (4.12)$$

Dónde:  $m_{cQ}$  es el peso de la ceniza del queso fresco de cabra,  $m_a$  es el peso de la capsula con cenizas y  $m_b$  es el peso de la capsula vacía, todo expresado en gramos.



**Figura 4.9:** Muestras calcinadas de queso de cabra

Posteriormente se procedió a colocar las muestras calcinadas en el desecador como se muestra en la Figura 4.10, hasta alcanzar la temperatura ambiente y se tomó el peso, esto se repitió hasta que se alcanzó un valor constante del peso.

El contenido de cenizas del queso, se calculó con la ecuación 4.13.

$$C_Q = \frac{m_{cQ}}{m_{mQ}} \times 100 \quad (4.13)$$

Donde:  $C_Q$  corresponde a la composición de cenizas presente en el queso fresco de cabra (%p/p),  $m_{cQ}$  es la masa de cenizas del queso fresco (g) y  $m_{mQ}$  es la masa de la muestra (g).



**Figura 4.10:** Muestras de queso calcinadas en el desecador

#### **4.1.4.2 Determinación de grasas del queso fresco de cabra**

La determinación de grasa (macronutriente) en el queso fresco de cabra se realizó mediante el método Babcock descrito en el acápite 4.1.2.2, en el laboratorio de alimentos del MIFIC (LABAL), donde se entregó tres muestras de 500 gramos para su análisis. El resultado obtenido por el LABAL (ver Anexo B.4) se denotó como  $G_Q$  (contenido de grasa presente en el queso fresco expresado en %p/p).

#### **4.1.4.3 Determinación de proteínas del queso fresco de cabra**

La determinación de proteína (macronutriente) en el queso fresco de cabra se realizó mediante el método Kjeldhal descrito en el acápite 4.1.2.3, en el laboratorio de alimentos (ver Anexo B.4) del MIFIC (LABAL), donde se entregó 3 muestras de 500 gramos para su análisis. Con la ecuación 4.14 se calculó el porcentaje de nitrógeno presente en las muestras y con la ecuación 4.14a la concentración de la proteína contenida en el queso fresco.



$$N_Q = \frac{(T_Q - B) \times 14.007 \times N \times 100}{m_{mQ}} \quad (4.14)$$

$$P_Q = N_Q \times 6,38 \quad (4.14a)$$

Donde:  $N_Q$  es el contenido de nitrógeno en el queso de cabra (%p/p),  $T_Q$  es el volumen de hidróxido de sodio (ml) usado para titular la muestra de queso,  $B$  es el volumen de hidróxido de sodio (ml) usado para titular el blanco,  $N$  corresponde a la concentración del hidróxido de sodio (N), 6,38 es el factor de conversión para leche de cabra y sus derivados y  $P_Q$  es el contenido de proteínas (%p/p).

#### 4.1.4.4 Determinación de azúcares totales del queso de cabra

Los azúcares totales (macronutriente) presentes en la leche de cabra se determinaron por diferencia, utilizando la ecuación 4.15.

$$A_{TQ} = 100 - (H_Q + C_Q + P_Q + G_Q) \quad (4.15)$$

Donde:  $A_{TQ}$  corresponde al contenido de azúcares totales,  $H_Q$  es el contenido de humedad,  $C_Q$  es la composición de cenizas,  $P_Q$  es el contenido de proteínas y  $G_Q$  contenido de grasa, todos expresados en (%p/p) y presente en el queso fresco de cabra.

#### 4.1.5 Determinación de las propiedades físico-químicas del lactosuero íntegro

Los métodos y procedimientos que se utilizaron para determinar las propiedades físico-químicas al lactosuero íntegro se describen a continuación.

##### 4.1.5.1 Determinación de la densidad del lactosuero íntegro

La densidad del lactosuero íntegro, se determinó haciendo uso del método del picnómetro a 20 °C descrito en el acápite 4.1.1.1.

Para el cálculo de la densidad del lactosuero íntegro se utilizó la ecuación 4.16.

$$\delta_{si} = \frac{m_{psi} - m_p}{V_{si}} \quad (4.16)$$

Donde:  $\delta_{si}$  es la densidad del lactosuero íntegro de cabra (g/ml),  $m_{psi}$  es la masa del picnómetro con lactosuero íntegro de cabra (g),  $m_p$  es la masa del picnómetro vacío (g) y  $V_{si}$  corresponde al volumen del lactosuero íntegro de cabra (ml).



#### 4.1.5.2 Determinación de pH del lactosuero íntegro

Para determinar el pH del lactosuero íntegro, se utilizó un pH-metro (ver anexo A, Figura A.3) como se refleja en la Figura 4.11, estas lecturas se realizaron por triplicado y luego se calculó una media aritmética.



**Figura 4.11:** Medición del pH del lactosuero íntegro

#### 4.1.5.3 Determinación de humedad del lactosuero íntegro

Para determinar el contenido de humedad del lactosuero íntegro se eliminó el agua presente en las muestras mediante el método indirecto de desecación en un horno de bandejas. El procedimiento se describe en el acápite 4.1.1.3.

Posteriormente las muestras se colocaron en un desecador, hasta que alcanzaran la temperatura ambiente y se tomó el peso, esto se repitió hasta que se alcanzaran un valor constante del peso del material seco. La masa de agua evaporada se determinó por medio de la ecuación 4.17.

$$m_{\text{aesi}} = m_{\text{msi}} - m_s \quad (4.17)$$

Donde:  $m_{\text{aesi}}$  es la masa de agua evaporada (g) del lactosuero íntegro,  $m_{\text{msi}}$  es la masa de la muestra (g) de lactosuero íntegro y  $m_s$  corresponde a la masa de materia seca (g).

El contenido de humedad para el lactosuero íntegro se determinó con la ecuación 4.18.

$$H_{\text{si}} = \frac{m_{\text{aesi}}}{m_{\text{msi}}} \times 100 \quad (4.18)$$

Donde:  $H_{\text{si}}$  es el contenido de humedad en lactosuero íntegro (% p/p).

#### 4.1.6 Determinación de micro y macro nutrientes del lactosuero íntegro

Los micro y macro nutrientes del lactosuero íntegro determinados son: la ceniza, contenido de grasa, azúcares totales y proteínas; a continuación se describen los procedimientos y métodos utilizados para cada uno de los componentes.

##### 4.1.6.1 Determinación de cenizas del lactosuero íntegro

El contenido de ceniza en el lactosuero íntegro, se determinó aplicando el método de calcinación como se muestra en la Figura 4.12. El procedimiento se describe en el acápite 4.1.2.1 y el contenido de cenizas se calculó con la ecuación 4.19.

Posteriormente se procedió a colocar las muestras calcinadas en el desecador como se muestra en la Figura 4.13, hasta alcanzar la temperatura ambiente y se tomó el peso, esto se repitió hasta que se alcanzó un valor constante del peso.

$$m_{csi} = m_a - m_b \quad (4.19)$$

Donde:  $m_{csi}$  es la masa de la cenizas del lactosuero íntegro,  $m_a$  la masa de la capsula con cenizas y  $m_b$  es la masa de la capsula vacía, todo expresado en gramos.

El porcentaje de cenizas se calculó con la ecuación 4.20.

$$C_{si} = \frac{m_{csi}}{m_{msi}} \times 100 \quad (4.20)$$

Donde:  $C_{si}$  corresponde a la composición de cenizas (%p/p) del lactosuero íntegro,  $m_{csi}$  es la masa de cenizas (g) para el lactosuero íntegro y  $m_{msi}$  es la masa de la muestra (g).



**Figura 4.12:** Muestras calcinadas de lactosuero íntegro



**Figura 4.13:** Muestras de lactosuero íntegro calcinadas en el desecador

#### **4.1.6.2 Determinación de grasas del lactosuero íntegro**

La determinación de grasa (macronutriente) en el lactosuero íntegro de cabra se realizó mediante el método Babcock descrito en el acápite 4.1.2.2, en el laboratorio de alimentos del MIFIC (LABAL), donde se entregó tres muestras de 500 gramos para su análisis. El resultado obtenido por el LABAL (ver Anexo B.4) se denoto como  $G_{si}$  (contenido de grasa presente en el lactosuero íntegro expresado en %p/p).

#### 4.1.6.3 Determinación de proteínas del lactosuero íntegro

La determinación de proteína (macronutriente) en el lactosuero íntegro se realizó mediante el método Kjeldhal descrito en el acápite 4.1.2.3, en el laboratorio de alimentos (ver Anexo B.4) del MIFIC (LABAL), donde se entregó 3 muestras de 500 gramos para su análisis. Con la ecuación 4.21 se calculó el porcentaje de nitrógeno presente en las muestras y con la ecuación 4.21a la concentración de la proteína contenida en el lactosuero íntegro.

$$N_{si} = \frac{(T_{si}-B) \times 14.007 \times N \times 100}{m_{msi}} \quad (4.21)$$

$$P_{si} = N_{si} \times 6,38 \quad (4.21a)$$

Donde:  $N_{si}$  es el contenido de nitrógeno (%p/p) para el lactosuero íntegro,  $T_{si}$  es el volumen de hidróxido de sodio (ml) usado para la muestra del lactosuero,  $B$  es el volumen de hidróxido de sodio (ml) usado para el blanco,  $N$  corresponde a la concentración del hidróxido de sodio ( $N$ ), 6,38 es el factor de conversión para leche de cabra y sus derivados y  $P_{si}$  es el contenido de proteínas correspondiente al lactosuero íntegro (%p/p).

#### 4.1.6.4 Determinación de azúcares totales en lactosuero íntegro

Los azúcares totales (macronutriente) presentes en el lactosuero íntegro se determinó por diferencia, utilizando la ecuación 4.22.

$$A_{Tsi} = 100 - (H_{si} + C_{si} + P_{si} + G_{si}) \quad (4.22)$$

Donde:  $A_{Tsi}$  corresponde al contenido de azúcares totales,  $H_{si}$  es el contenido de humedad,  $C_{si}$  es la composición de cenizas,  $P_{si}$  es el contenido de proteínas y  $G_{si}$  contenido de grasa, todos expresados en (%p/p) y presente en el lactosuero íntegro.

### 4.2 Producción de biomasa de *Lactobacillus* a partir de lactosuero íntegro y lactosuero enriquecido

Para la producción de la biomasa se utilizó lactosuero de cabra íntegro y lactosuero enriquecido como medio de cultivo para la reproducción de microorganismos del género *Lactobacillus*, debido a que no se tenía inóculo inicial, se hizo necesario el aislamiento de cepas biológicas provenientes de una matriz alimenticia y sembradas en medios comerciales.

#### 4.2.1 Aislamiento de *Lactobacillus*

La cepa que se utilizó para la fermentación y producción de biomasa de *Lactobacillus*, se aisló a partir de yogurt natural, para esto se adquirieron dos marcas diferentes de yogurt natural: uno de marca nacional y otro de marca extranjera.

Se intentó reproducir *Lactobacillus acidophilus* a partir de una muestra encapsulada liofilizada, pero esto no fue posible debido a la probabilidad de que esta muestra haya sido sometida a tratamiento térmico de inactivación y de esta forma haber perdido su capacidad para reproducirse conservando solo su capacidad enzimática.

Para el aislamiento de la cepa de trabajo se inició con muestras de yogurt, se climatizaron hasta que alcanzaron temperatura ambiente y se procedió a tomar muestras con la punta de una espátula estéril cerca de la llama de un mechero (ver Figura 4.14) para su siembra posterior en medios de cultivos.

Estas muestras fueron introducidas en tubos de ensayo que contenían 9 ml de agua destilada estéril, para diluirlas y luego sembrarlas en agar MRS y agar nutritivo con el fin de aislar colonias de II generación.

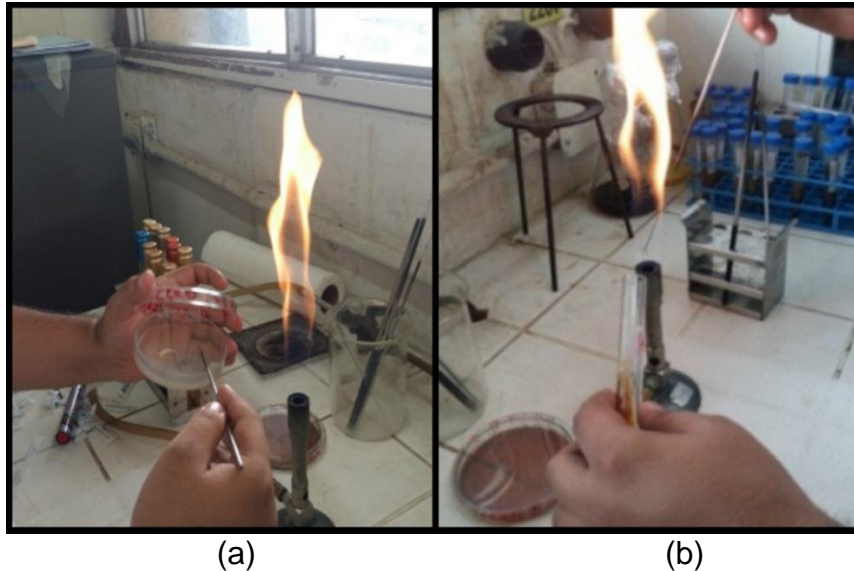


**Figura 4.14:** Toma de muestra de yogurt natural

##### 4.2.1.1 Siembra bacteriológica

La siembra bacteriológica de ambos yogurt natural se realizó en tubos inclinados con agar por método de zigzag y en placas de Petri por el método de disminución en estrías (ver Figura 4.15), marcando tres zonas de crecimiento de mayor a menor concentración de células viables en las placas.

Después del procedimiento de rayado las placas y los tubos fueron incubados en una incubadora (BINDER, modelo C-150, ver anexo A, Figura A.7) en posición invertida a 30 °C por espacio de setenta y dos horas, monitoreando cada veinticuatro horas.



**Figura 4.15:** Siembra bacteriológica en (a) placas de Petri y en (b) tubos inclinados

#### 4.2.1.2 Morfología de *Lactobacillus* (II generación)

Observado el crecimiento en ambos medios se realizaron frotis de las muestras tomadas de los tubos inclinados y de las placas de Petri con agar MRS y agar nutritivo (ver Figura 4.16).

Las muestras se tiñeron con cristal violeta (tinción simple) con el objetivo de poder visualizar la morfología de los microorganismos bajo la observación en un microscopio (Revelation III, modelo: 002759, ver anexo A, Figura A.10).





**Figura 4.16:** Frotis de muestras

#### **4.2.1.3 Pruebas de Tinción de Gram**

Se realizó tinción de Gram para poder establecer la naturaleza Gram positiva o Gram negativo de los microorganismos aislados. El procedimiento se realizó como se describe a continuación:

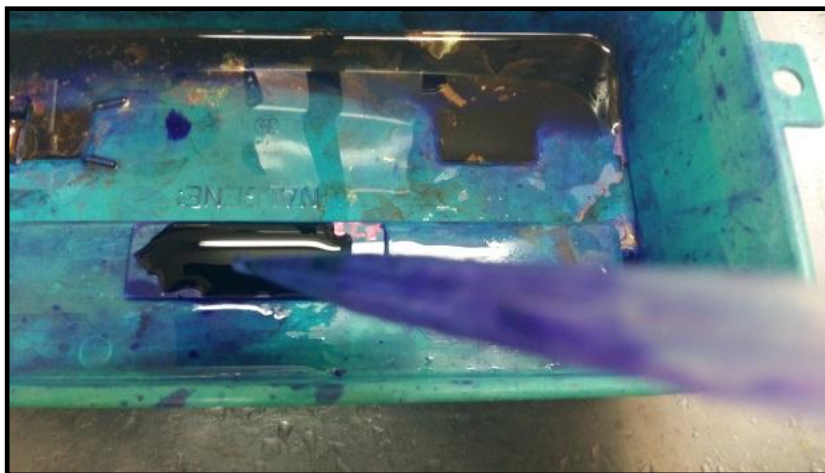
Se tomó con la punta del asa una pequeña cantidad de muestra, y se diluyó en una gota de agua destilada estéril colocada en un portaobjetos, posteriormente se secó al mechero hasta eliminar la mayor cantidad de humedad.

Seguidamente se colocó cristal violeta como se muestra en la Figura 4.17, cubriendo toda la muestra durante 1 minuto y luego se agregó el lugol, también cubriendo la muestra por 1 minuto, y se lavó con agua destilada, en seguida; se cubrió la muestra con una mezcla de alcohol acetona (70%-30%), por un tiempo de 30 segundos, y se realizó un lavado con agua destilada.

Consecutivamente, se agregó una tinción de contraste, para teñir las bacterias que pierden el primer colorante, agregando safranina la muestra y asegurando que esta quede cubierta durante 1 minuto. Luego se lavó con agua destilada y se dejó secar a temperatura ambiente.

Por último, la muestra seca se colocó en el microscopio para obtener la morfología del *Lactobacillus*.





**Figura 4.17:** Prueba de Tinción de Gram

#### **4.2.1.4 Segunda siembra bacteriológica (III Generación)**

Habiendo visualizado la morfología celular y la reacción a la tinción de Gram, obteniéndose resultados positivos, se procedió a realizar una resiembra para obtener una III generación. Se tomaron muestras de los tubos de ensayo inclinados y placas de Petri provenientes de la II generación en ambos tipos de yogur y se procedió a sembrar nuevamente en tubos inclinados y placas de Petri con agar MRS y agar nutriente.

Terminada la siembra se procedió a incubar las muestras a 30 °C en una incubadora (BINDER modelo C-150, ver anexo A, Figura A.7), el proceso duro setenta y dos horas y se monitoreo cada veinticuatro horas, una vez observado crecimiento visible se tomaron muestras para realizar frotis y pruebas de tinción de Gram para visualizar en el microscopio la morfología de los microorganismos que se lograron reproducir.

#### **4.2.1.5 Tercera siembra bacteriológica (IV Generación)**

Se procedió a realizar la última siembra tomando las muestras de las colonias aisladas de los tubos de ensayos y las placas de Petri con el fin de aislar las cepas de trabajo, en este caso se trabajó en condiciones de microaerofilia para favorecer el crecimiento de los microorganismos.

Para lograr las condiciones de microaerofilia (ver Figura 4.18) los cultivos fueron sellados con para film e incubados en un recipiente de vidrio, colocando dos candelas encendidas en el interior con el fin de reducir por combustión el nivel de oxígeno de la cámara, el proceso de incubación se monitorio cada doce horas, observando crecimiento a cuarenta y ocho horas posteriores a la siembra.



**Figura 4.18:** Siembra bacteriológica en microaerofilia

#### **4.2.1.6 Tinción de Gram y prueba de catalasa para la IV Generación**

Observado el crecimiento de la tercera generación, se realizó prueba de catalasa y tinción de Gram a las muestras de yogurt marca extranjera, en el caso del yogurt de marca nacional no hubo crecimiento. La prueba de catalasa se realizó a colonias provenientes de placas Petri que contenían crecimiento, para esto a las colonias seleccionadas se le agregó una gota de peróxido de hidrógeno 30%p/v.

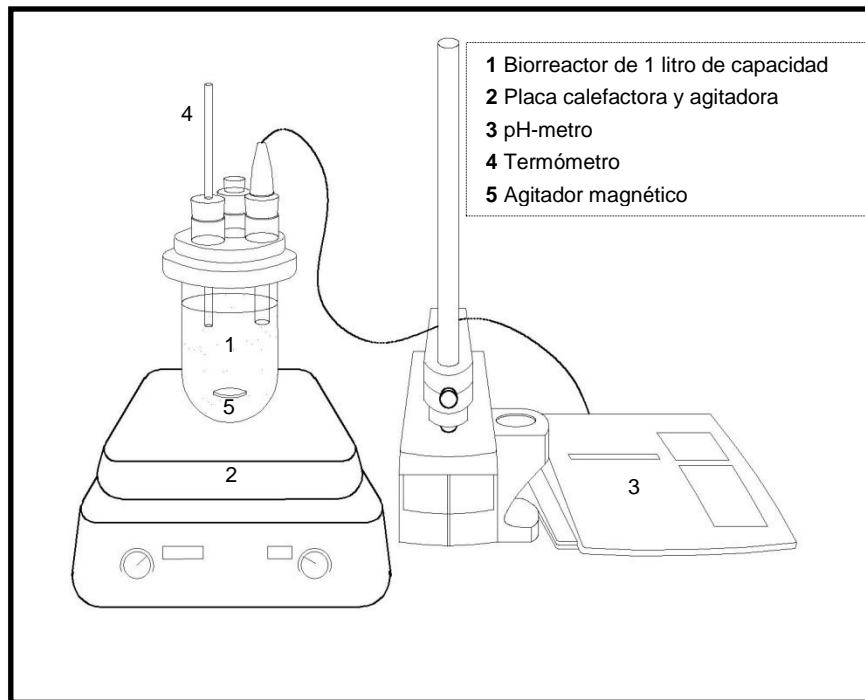
Una vez comprobadas las cepas obtenidas, las placas de Petri y tubos inclinados se guardaron herméticamente para ser utilizadas como inóculos en la fermentación del lactosuero de cabra.

#### **4.2.2 Fermentación del lactosuero íntegro y lactosuero enriquecido**

Se realizó un ensayo preliminar con lactosuero íntegro para tomarlo como base y poder determinar el tiempo de muestreo, así como poder definir condiciones de montaje y establecer la frecuencia de toma de muestras.

Se preparó un inóculo a partir de crecimiento celular en placas de Petri con agar MRS, realizando un lavado con 10 ml de suero íntegro estéril y de esta forma remover la mayor cantidad de colonias en crecimiento con una asa de platino.

El montaje del biorreactor se plantea en la Figura 4.19:



**Figura 4.19:** Montaje del sistema de fermentación

El muestreo se realizó cada dos horas a una temperatura del medio de 30 °C y a 300 rpm. En el primer experimento de prueba se observó un rápido crecimiento a las dos horas del montaje, por lo que se definió monitorear por ciclos más pequeños de tiempo en los próximos experimentos.

Se realizaron tres fermentaciones; una con lactosuero íntegro, otra con lactosuero enriquecido (concentración final de 7 % p/v de lactosa), y la última para lactosuero enriquecido (concentración final 7 % p/v de lactosa y 50 % p/v sales según el medio M.R.S y 5 g/L de extracto de levadura como factor de crecimiento).

En este trabajo se asignó una abreviatura para cada medio de fermentación, como se refleja en la Tabla 4.1

**Tabla 4.1:** Descripción para los medios de fermentación

Medio	Identificación
Lactosuero íntegro	LSI
Lactosuero enriquecido con concentración final de 7 % p/v de lactosa	LSE1
Lactosuero enriquecido con concentración final 7 % p/v de lactosa y 50 % p/v sales según el medio M.R.S y 5 g/L y extracto de levadura	LSE2

Se realizó el seguimiento del pH durante la fermentación para cada uno de los medios, manteniendo el electrodo sumergido permanentemente en la solución, los valores del pH se leyeron directamente en el pH-metro.

Se calculó la acidez titulable al inicio y al final de la fermentación con la ecuación 4.23, para esto se realizó una titulación ácido base con hidróxido de sodio 0,1 N y fenolftaleína al 5% p/p.

$$A = \frac{V_T \times N_T \times 0,0908}{V_m} \quad (4.23)$$

Donde: A es la concentración de acidez titulable (% p/v),  $V_T$  es el volumen gastado de Hidróxido de sodio (ml) en la titulación,  $N_T$  es la concentración de Hidróxido de sodio (N) y  $V_m$  es el volumen de la muestra (ml).

#### 4.2.3 Determinación del rendimiento estimado de biomasa de *Lactobacillus*

La concentración de biomasa producida durante la fermentación, se determinó mediante el siguiente procedimiento:

Se tomó una alícuota de 1 ml del contenido del reactor, estas se colocó en una capsula de aluminio y se pesó, luego se introdujo en el horno de bandejas a temperatura de 105°C durante cuatro horas hasta eliminar el contenido de humedad. Posteriormente, las muestras se sacaron del horno y se colocaron en un desecador, una vez que la muestra alcanzó la temperatura ambiente del laboratorio se sacó del desecador y se pesó hasta lograr peso constante, esto se realizó por triplicado para cada muestra, este se registró para cada uno de las muestras obtenidas en los tiempos descritos en el acápite anterior.

Posteriormente se realizó el cálculo de la biomasa producida, mediante la ecuación 4.24:

$$X_p = (B_f - B_s) \times 1000 \quad (4.24)$$

Donde:  $X_p$  corresponde a la concentración de biomasa producida para cada muestreo (g/L),  $B_f$  es el peso de materia seca (g) para cada muestro,  $B_s$  es el peso de materia seca (g) del lactosuero y 1000 es el factor de conversión para pasar de mililitro a litro

El rendimiento estimado para cada fermentación se obtuvo con la ecuación 4.25.

$$Y_{X/S} = \frac{X_{pmax}}{S_0} \quad (4.25)$$

Donde:  $Y_{x/s}$  corresponde al rendimiento estimado para cada fermentación,  $X_{pmax}$  es la máxima concentración de biomasa (g/L) alcanzado durante la fermentación y  $S_0$  es la concentración inicial de sustrato (g/L).

#### 4.2.4 Determinación de la productividad de biomasa de *Lactobacillus*

Se determinó la productividad para cada medio de fermentación con la ecuación 4.26, y posteriormente se calculó la productividad promedio denotado como  $P_p$ .

$$P = \frac{(X_f - X_s)}{t} \quad (4.26)$$

Donde: P corresponde a la productividad (g/L×h) para cada tiempo,  $X_f$  es la concentración (g/L) de biomasa para cada tiempo,  $X_s$  es la concentración inicial (g/L) de biomasa inoculada y t es el tiempo (h).

#### 4.2.5 Determinación de la tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) de biomasa de *Lactobacillus*

Los datos derivados de los experimentos de fermentación, fueron analizados a fin de obtener la tasa específica de crecimiento, para esto se hizo uso de la ecuación de Verhulst (ecuación 4.27).

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \left(1 - \frac{X}{X_M}\right) \quad (4.27)$$

Donde: X es la concentración (g/L) de biomasa,  $\mu$  corresponde a la tasa específica de crecimiento ( $h^{-1}$ ) y  $X_M$  es el valor máximo de concentración (g/L).

La solución general a esta ecuación es una función logística (ecuación 4.28), con una población inicial  $X_0$ .

$$X(t) = \frac{X_M \times X_0 (e^{\mu t})}{X_M + X_0 (e^{\mu t} - 1)} \quad (4.28)$$

Donde:  $X_0$  es la concentración inicial de biomasa (g/L).

Para determinar la tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) se realizó un ajuste entre los datos experimentales y el modelo logístico mostrado en la ecuación 4.28, utilizando el software POLYMATH 6.0 y aplicando el método iterativo LM (Levenber-Marquardt,).

Dado que para realizar el ajuste del modelo logístico con los datos experimentales se requiere de un valor inicial de  $\mu$  para cada medio de fermentación, se procedió a calcular  $\mu$  a partir de los datos experimentales para los primeros tres valores de la curva de crecimiento, y aplicando el modelo general de crecimiento (ver ecuación 4.29), el cual propone que la velocidad de

crecimiento de biomasa ( $r_x$ ) es proporcional a la cantidad de biomasa ( $X$ ) producida, a través de la tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ).

$$r_x = \frac{d(X)}{dt} = \mu(X) \quad (4.29)$$

Donde:  $r_x$  es crecimiento de biomasa en (g/L×h), y  $\mu$  es la tasa específica de crecimiento ( $h^{-1}$ ).

A partir de la forma integrada y linealizada de la ecuación 4.29, gráficamente se obtiene el valor de la tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) para la primera hora del tiempo de fermentación, donde en efecto, el comportamiento es descrito por una línea recta cuya pendiente es  $\mu$  (ver ecuación 4.30).

$$\ln X = \mu t + \ln X_0 \quad (4.30)$$

## V. Análisis y discusión de resultados

### 5.1 Propiedades de la leche, queso fresco y lactosuero de cabra

#### 5.1.1 Propiedades físico-químicas y composición de micro y macro nutrientes de la leche de cabra

Los valores de los parámetros físico-químicos y la composición de los micro y macro nutrientes determinados para la leche de cabra se muestran en la Tabla 5.1, obteniéndose que; la densidad a 20 °C es de 1,080 g/ml, el valor del pH es de 6,70 y el contenido de humedad es de 84,67 %. Por otro lado, la composición de micronutrientes es del 5,41% y el de los macronutrientes presentan un contenido de proteína del 24,72%, con un 25,44% de grasas totales y un 44,421 % de azúcares totales, valores expresados en base seca.

Todos estos valores se encuentran en los rangos reportados en la bibliografía según (Roca, 2012) y (Quiles, y otros, 2012), por lo tanto, es una leche adecuada para la elaboración de queso y obtención de lactosuero debido a alto porcentaje de proteína y grasa presente en la leche.

**Tabla 5.1:** Propiedades físico-químicas y composición de micro y macro nutrientes de la leche de cabra

Leche de Cabra			
Propiedades	Valor	Referencia	Unidades
Propiedades físico-químicas			
Densidad	1,080	1,026 -1,042	g/ml
pH	6,70	6,30 - 6,80	-
Composición de micro y macro nutrientes			
Humedad	84,67	87,1	% p/p
Cenizas	5,41	5,43	% p/p
Proteínas	24,72	25,58	% p/p
Grasas Totales	25,44	33,33	% p/p
Azúcares Totales	44,42	35,66	% p/p
Total (base seca)	100,00	99,99	% p/p

Fuente: (Roca, 2012) y (Quiles, y otros, 2012).

#### 5.1.2 Propiedades físico-químicas y composición de micro y macro nutrientes queso fresco de cabra

El queso fresco elaborado a escala de laboratorio tiene las siguientes propiedades físico-químicas: densidad aparente de 1,15 g/ml medida a 20 °C y un contenido de humedad de 52,82% p/p.

La composición de los micronutrientes es de 6,68% p/p, mientras que la composición de los macronutrientes; proteínas y grasa es de 44,40% p/p y



46,63% p/p respectivamente (expresados en base seca). Todos estos valores se encuentran dentro de los rangos establecidos para quesos elaborados internacionalmente reportados por (Salgado, 2010) y (Cuadra, 2015).

**Tabla 5.2:** Propiedades físico-químicas y composición de micro y macro nutrientes del queso fresco de cabra

Queso fresco de cabra			
Propiedades	Valor	Referencia	Unidades
Propiedades físico-químicas			
Densidad	1,15	-	g/ml
Composición de micro y macro nutrientes			
Humedad	52,82	57,62	% p/p
Cenizas	6,68	4,91	% p/p
Proteínas	44,40	41,06	% p/p
Grasas Totales	46,63	51,44	% p/p
Azucares Totales	2,42	2,60	% p/p
Total (base seca)	100,00	99,99	% p/p

Fuente: (Salgado, 2010) y (Cuadra, 2015)

### 5.1.3 Propiedades físico-químicas y composición de micro y macro nutrientes del lactosuero íntegro

Los valores de los parámetros físico-químicos y la composición de micro y macro nutrientes para el lactosuero íntegro obtenido después de la elaboración de queso fresco de cabra, se muestran en la Tabla 5.3, en esta se observa que la densidad a 20 °C es de 1,02 g/ml, con un pH de 6,78 y un contenido de humedad de 92,49 %. Por otro lado, la composición de micronutrientes es del 5,46% y el de los macronutrientes presentan un contenido de proteína del 13,98%, con un 9,32% de grasas totales y un 71.24% de azucares totales (valores expresados en base seca), con lo cual se observa que es un medio de cultivo adecuado para la reproducción de microorganismos del genero *Lactobacillus*.

**Tabla 5.3:** Propiedades físico-químicas y composición de micro y macro nutrientes del lactosuero íntegro

Lactosuero íntegro			
Propiedades	Valor	Referencia	Unidades
Propiedades físico-químicas			
Densidad	1,020	1,027-1,029	g/ml
pH	6,78	6,30 - 6,70	-
Composición de micro y macro nutrientes			
Humedad	92,49	93,39	% p/p
Cenizas	5,46	9,23	% p/p

Proteínas	13,98	11,65	% p/p
Grasas Totales	9,32	7,72	% p/p
Azúcares Totales	71,24	71,26	% p/p
Total (base seca)	100,00	99,99	% p/p

Fuente: (Chacón, 2005), (González, 2011) y (Negri, 2005).

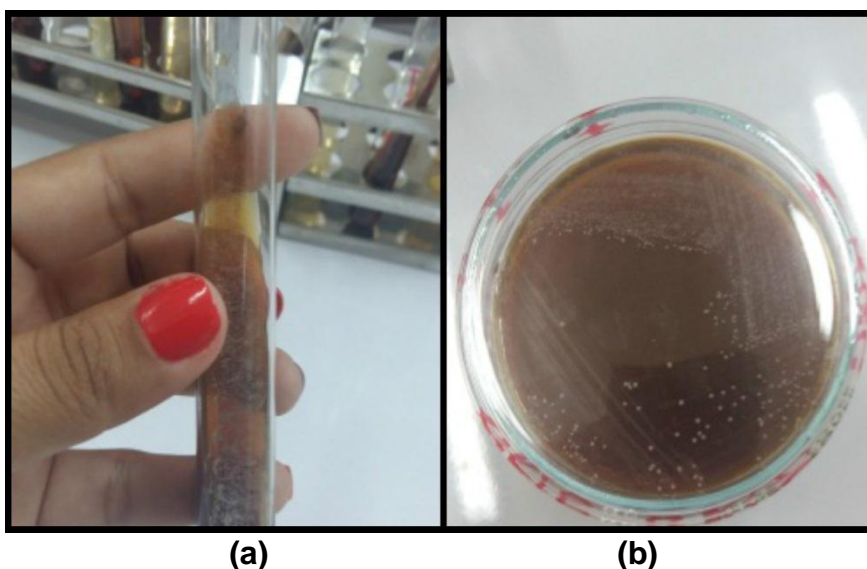
## 5.2 Producción de biomasa de *Lactobacillus* a partir de lactosuero íntegro y lactosuero enriquecido como sustrato

### 5.2.1 Aislamiento de la cepa de trabajo

Se logró aislar cepas del genero *Lactobacillus* a partir de yogurt natural de marca extranjera mediante resiembra de bacterias presente en el yogurt.

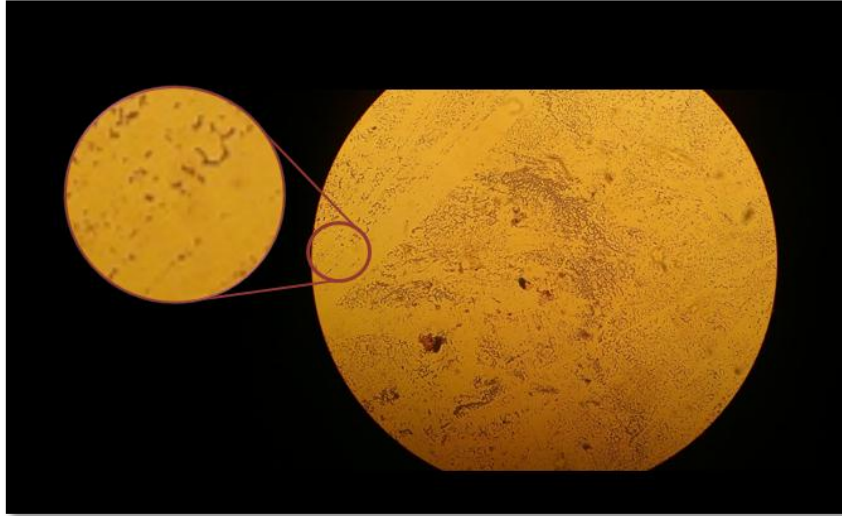
#### 5.2.1.1 Primera siembra bacteriana (II generación)

Durante la primera siembra bacteriológica ambas muestras de yogurt, mostraron crecimiento de después de setenta y dos horas de incubación, tanto en los tubos inclinados como en las placas Petri para todos los casos. En la Figura 5.1 se muestra el crecimiento para el yogurt marca extranjera en agar MRS.



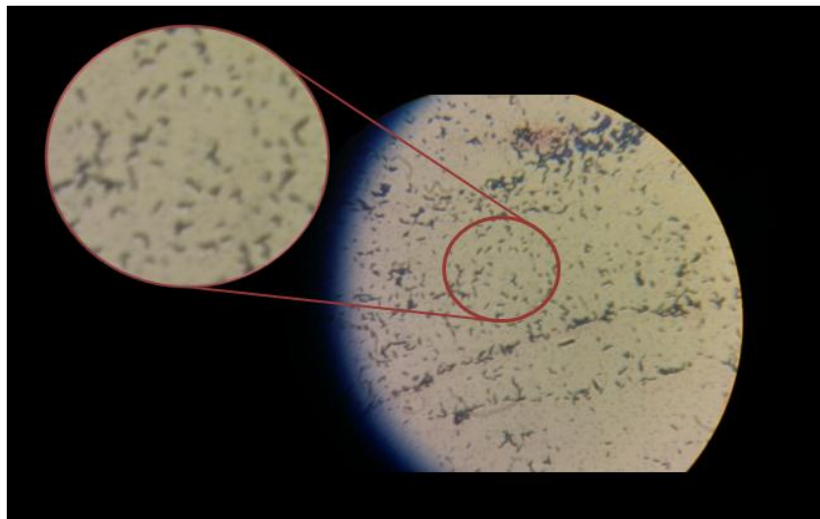
**Figura 5.1:** Crecimiento bacteriológico (a) tubo inclinado y (b) placa Petri de *Lactobacillus* a partir de yogurt griego

Al realizar la tinción simple de colonias aisladas de la segunda generación, se observaron microorganismos en forma de bacilar y cocoide, mediante la observación en el microscopio como se muestra en la Figura 5.2.



**Figura 5.2:** Vista en el microscopio

Tomando en cuenta que el crecimiento observado en los tubos de ensayo y placas de Petri presentaba morfología celular similar a la de *Lactobacillus* se procedió a realizar tinción de Gram, observándose coloración azul (ver Figura 5.3), lo que corresponde a muestras Gram positivas, para ambas muestras de yogurt.



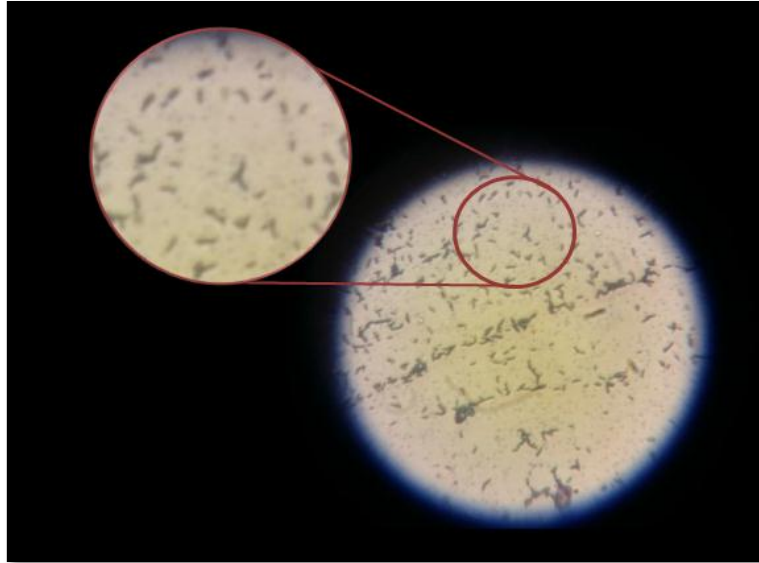
**Figura 5.3:** Vista en el microscopio después de la tinción de Gram

#### **5.2.1.2 Segunda siembra bacteriana (III generación)**

En la III generación, las muestras de yogurt marca nacional no crecieron en la mayoría de placas exceptuando una, y dos en el caso de los tubos de ensayo. Para las muestras de yogurt marca extranjera, crecieron en todos los medios, tanto tubos inclinados como placas de Petri y se observó crecimiento similar en números de colonias.

### 5.2.1.3 Tercera siembra bacteriana (IV generación)

Después de haber incubado en microaerofilia durante cuarenta y ocho horas, en el microscopio se visualizó la misma morfología bacilar característica de los *Lactobacillus* y las pruebas realizadas dieron como resultados células Gram positivas y catalasa negativa (ver Figura 5.4).



**Figura 5.4:** Vista en el microscopio de *Lactobacillus* aislados

### 5.2.2 Fermentación del lactosuero íntegro (LSI) y del lactosuero enriquecido (LSE1 y LSE2)

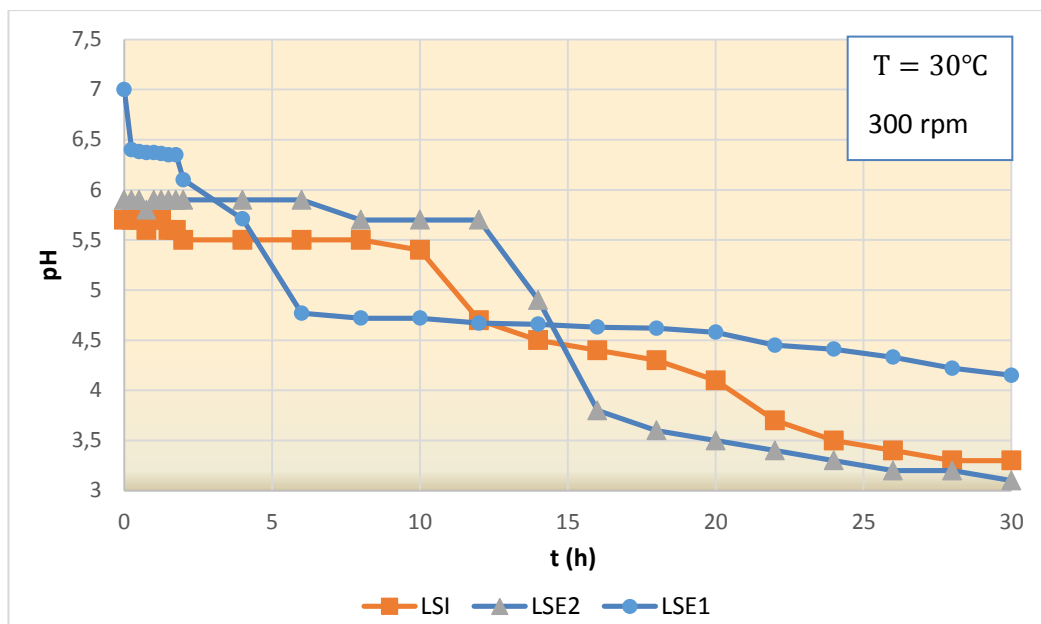
Los resultados del experimento preliminar brindó la siguiente información:

- 1) El crecimiento exponencial de la biomasa se da rápidamente en las primeras dos horas.
- 2) Se identificó que era necesario realizar la toma de muestra cada 15 minutos durante las dos primeras horas, para lograr un mejor seguimiento al crecimiento microbiano.

Los datos de los parámetros medidos para pH y calculados para la producción de biomasa en cada medio, se muestran en el anexo C, Tablas C.1, C.2 y C.3.

#### 5.2.2.1 Seguimiento de la acidez de biomasa por medio del pH

En la Figura 5.5 se muestran los datos registrados para el pH durante las treinta horas de seguimiento para los tres experimentos realizados, a continuación, se presenta la interpretación para cada uno de ellos.



**Figura 5.5:** Seguimiento del pH

Para la fermentación del medio LSI, se observó que en las primeras dos horas el pH disminuye desde 5,7 hasta 5,5. Manteniendo un comportamiento prácticamente constante hasta las ocho horas con un valor de 5,5.

Posteriormente presentó una caída en 0,1 unidades a las diez horas, seguido de una disminución significativa a las doce horas hasta 4,67 posteriormente siguió disminuyendo hasta alcanzar un pH de 4,1 a las veinte horas. Finalmente, este disminuyó hasta alcanzar un valor final de pH de 3,3 a las treinta horas. Esto indica que durante la fermentación se obtuvo una caída en el pH de 2,4 unidades, lo cual es un indicador que existe una producción de ácidos (ácido láctico en su mayoría) en el medio.

Para el caso donde se usó LSE1, el pH inicial del medio es de 7, reflejándose una disminución significativa de este a las 0,25 horas con pH 6,4, posteriormente este presentó un comportamiento casi constante durante las dos horas posteriores. Sin embargo, después de este tiempo se obtuvo una disminución significativa desde 6,4 hasta 4,8, en un tiempo de cuatro horas, seguidamente el pH siguió disminuyendo hasta alcanzar pH de 3,49 a las treinta horas.

Cuando se usó el medio LSE2, la fermentación inicia con un pH de 5,9, manteniéndose constante hasta las seis horas, seguida de una caída desde 5,9 a 5,7 en las siguientes dos horas, luego se obtuvo una disminución del pH hasta 5,4, la cual permaneció constante durante las siguientes cuatro horas. Después de las doce horas de experimentación se presenta una disminución significativa hasta un pH de 3,8 durante las siguientes cuatro horas, posteriormente siguió disminuyendo hasta alcanzar el valor de pH de 3,1 a las treinta horas.

Para valores de pH entre 4,5 y 6,0 existe una mayor producción de biomasa ya que estos microorganismos tienen afinidad a medios ligeramente ácidos, con pH entre 4,0 y 5,0 (Faro, 1999).

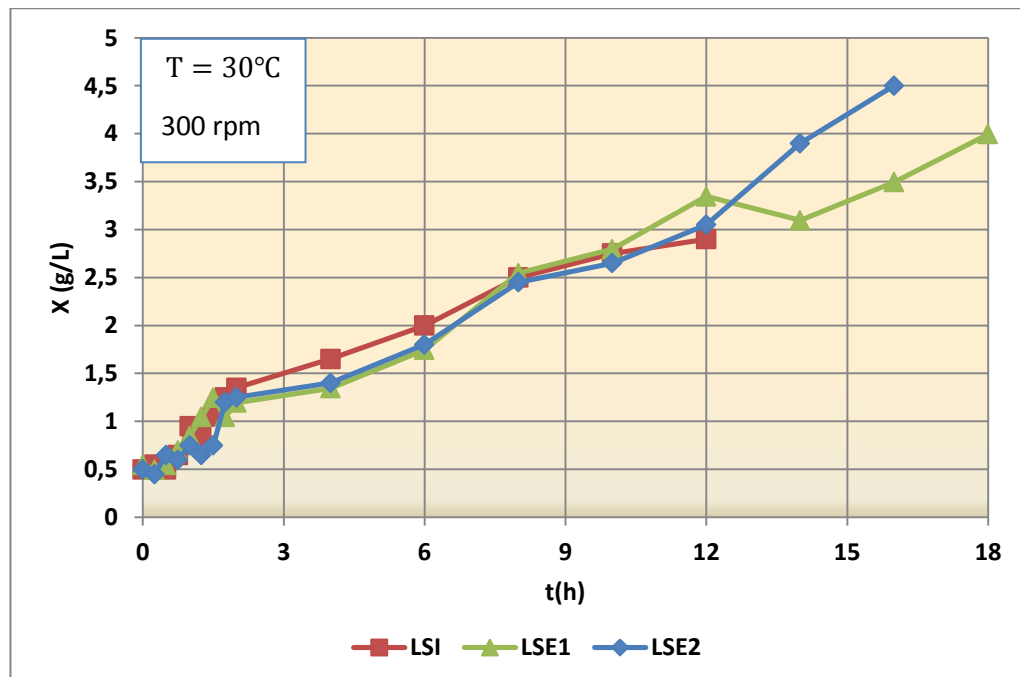
Los valores de concentración de acidez antes de la fermentación (inicial) y una vez finalizada esta (a las treinta horas de fermentación), se muestran en la Tabla 5.4. Para el LSI hubo un incremento de la acidez de 168,68%, para el caso del LSE1 fue de 164,49%, y de 325,22% para LSE2.

**Tabla 5.4:** Concentración de acidez titulable en los medios

Medio	Concentración de acidez inicial (%p/p)	Concentración de acidez final (%p/p)	Incremento de acidez (%)
LSI	0,19	0,51	168,68
LSE1	0,20	0,52	164,49
LSE2	0,21	0,89	325,22

### 5.2.2.2 Comportamiento del crecimiento de biomasa

En la Figura 5.6, se presentan las curvas de crecimiento bacteriano obtenidas para las fermentaciones con LSI, LSE1 y LSE2, observando la fase típica de crecimiento exponencial.



**Figura 5.6:** Comportamiento del crecimiento de biomasa

La fase de crecimiento de la fermentación se obtuvo a las doce horas para LSI, dieciocho horas para LSE1 y a las dieciséis horas para LSE2.

En el Anexo C.3 (ver Figura C.4) se muestran los valores registrados de concentración de biomasa para un tiempo de treinta horas, hasta el inicio de fase de muerte de los microorganismos.

En el anexo C.4 (Tablas C.4, C.5 y C.6) se estimó los costos de producción de biomasa de lactobacillus para LSI, LSE1 y LSE2.

### 5.2.3 Rendimiento estimado de biomasa de *Lactobacillus*

Se partió de una concentración inicial aproximada de 0,5 g/L de biomasa en tiempo cero para los tres medios. Para el LSI se alcanzó una máxima concentración a las doce horas con un valor de 2,9 g/L de biomasa. En el caso del LSE1 se obtuvo un máximo crecimiento de 3,995 g/L de biomasa a las dieciocho horas, mientras que para el LSE2 se alcanzó un máximo crecimiento a las dieciséis horas con un valor de 4,5 g/L de biomasa.

En la Tabla 5.5 se muestran los rendimientos estimados para cada medio fermentativo, siendo el medio LSE2 el que presentó el mayor rendimiento de biomasa producida, ya que es 1,19 y 1,13 veces mayor con respecto a LSI y LSE1 respectivamente.

**Tabla 5.5:** Rendimiento estimado para la biomasa

Medio	Rendimiento estimado ( $Y_{X/S}$ )
LSI	0,0542
LSE1	0,0570
LSE2	0,0643

### 5.2.4 Productividad de biomasa de *Lactobacillus*

En la tabla 5.6, se muestran los valores calculados de productividad para cada medio de fermentación con los tiempos respectivos. Para LSI se obtuvo una mayor productividad a 1 hora de fermentación equivalente a 0,45 g/Lxh, para LSE1 0,4647 g/Lxh a las 1,5 horas y 0,4 g/Lxh para LSE2 a las 1,75 horas.

Aunque estos resultados indican que la máxima productividad es para el medio LSE2, la productividad de biomasa promedio para cada medio fermentativo son: 0,2741, 0,2429 y 0,2393 (g/Lxh) para LSI, LSE1 y LSE2 respectivamente, lo que indica que el LSI sin necesidad de enriquecimiento es el medio de crecimiento más productivo para la producción de biomasa, ya que esta se alcanza en menor tiempo de operación.

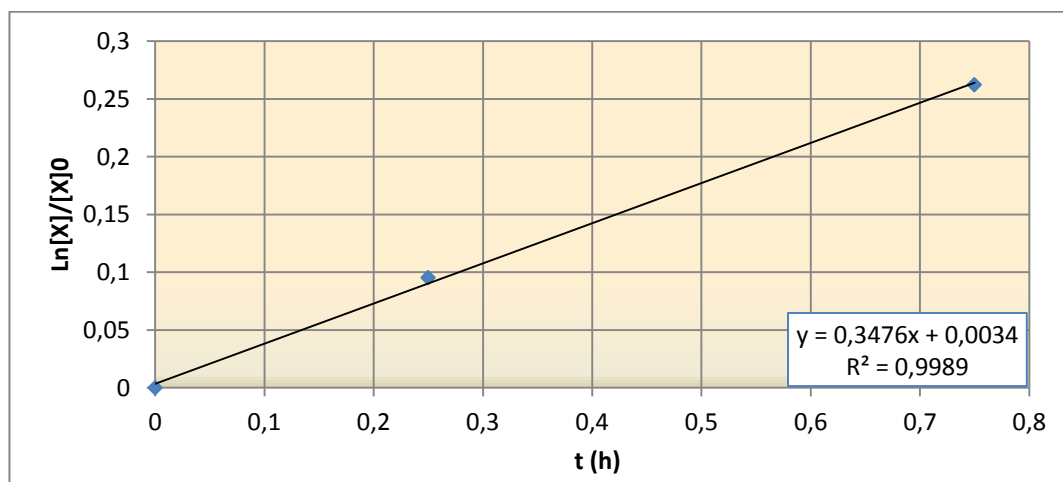


**Tabla 5.6:** Productividad durante la fermentación

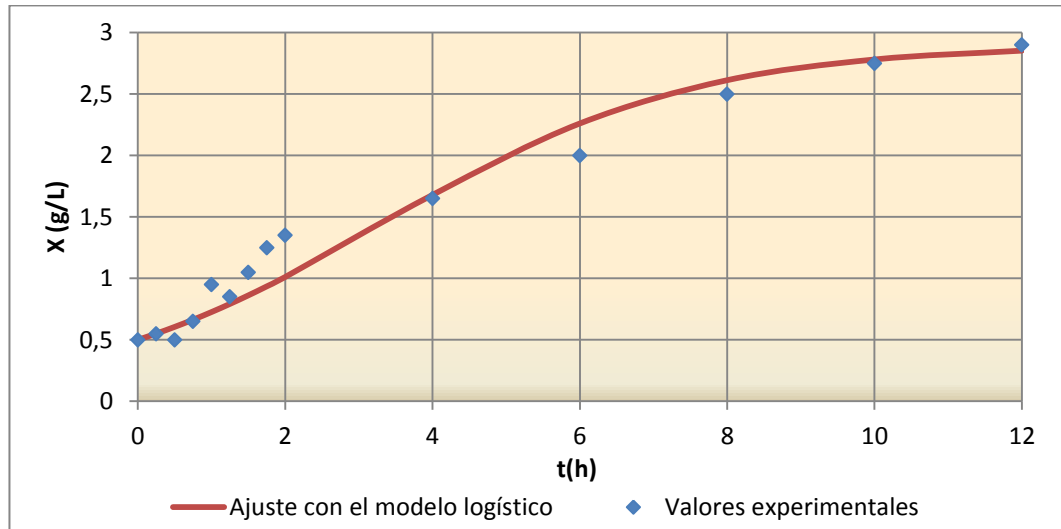
Tiempo (h)	Productividad (g/L*h)		
	LSI	LSE1	LSE2
0,25	0,2000	-	-
0,5	0,0000	0,0000	0,3000
0,75	0,2000	0,2000	0,1333
1	0,4500	0,3000	0,2500
1,25	0,2800	0,4000	0,1200
1,5	0,3667	0,4667	0,1667
1,75	0,4286	0,2857	0,4000
2	0,4250	0,3250	0,3750
4	0,2875	0,2000	0,2250
6	0,2500	0,2000	0,2167
8	0,2500	0,2500	0,2437
10	0,2250	0,2250	0,2150
12	0,2000	0,2333	0,2125
14	-	0,1821	0,2429
16	-	0,1844	0,2500
18	-	0,1917	-
Promedio	0,2741	0,2429	0,2393

### 5.2.5 Tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) y ajuste de los datos experimentales con el modelo logístico para LSI

En la Figura 5.7 se observa el ajuste lineal del modelo general de crecimiento para la producción de biomasa (g/L) respecto al tiempo (h) en las primeras 0,75 horas de la etapa de crecimiento para LSI, donde la pendiente de la ecuación ajustada es de 0,3476 y corresponde a la tasa específica de crecimiento.

**Figura 5.7:** Ajuste lineal de crecimiento para LSI

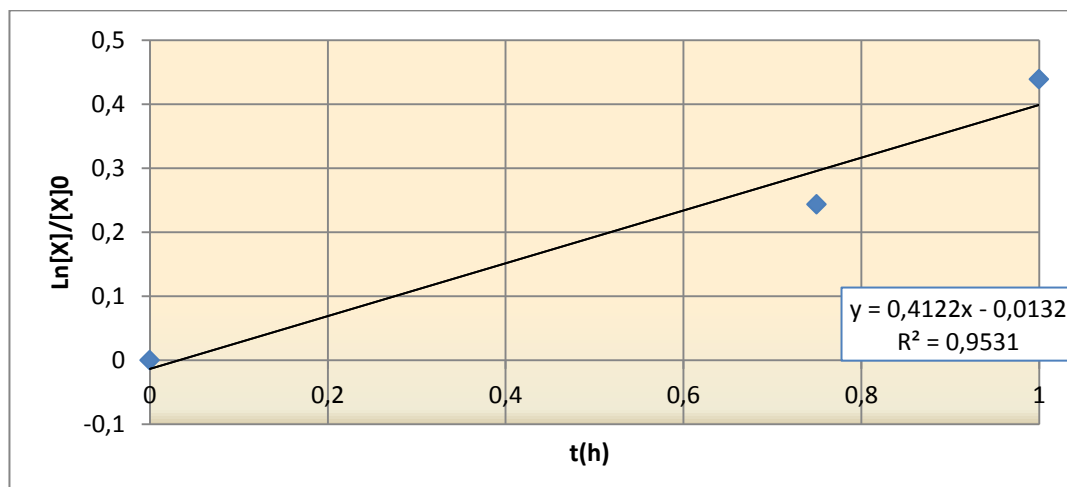
En la Figura 5.8 se muestra el ajuste de los datos experimentales y el modelo logístico obtenido mediante la aplicación del algoritmo L-M, empleado en el software Polymath 6.0. Una vez introducido el valor inicial de  $\mu = 0,3476\text{h}^{-1}$  se obtuvo una tasa específica de crecimiento de  $0,4717\text{h}^{-1}$ , con un ajuste de los datos:  $R^2 = 0,9569$ , varianza de 0,0307 y nivel de confianza del 95%. Este dato está muy cercano a valores obtenidos por (Aguirre, y otros, 2008).



**Figura 5.8:** Ajuste con el modelo logístico en la etapa de crecimiento para LSI

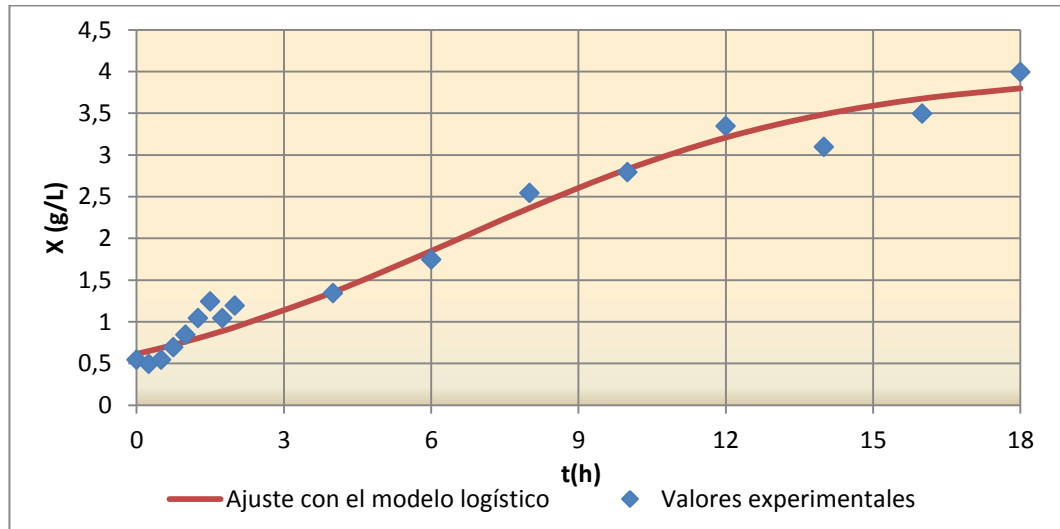
### 5.2.6 Tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) y ajuste de los datos experimentales con el modelo logístico para LSE1

En la Figura 5.9 se muestra el ajuste lineal del modelo general de crecimiento para la producción de biomasa (g/L) respecto al tiempo (h) en la primera hora de la etapa de crecimiento para LSE1, donde la pendiente de la ecuación ajustada es de 0,4055 y corresponde a la tasa específica de crecimiento.



**Figura 5.9:** Ajuste lineal de crecimiento para LSE1

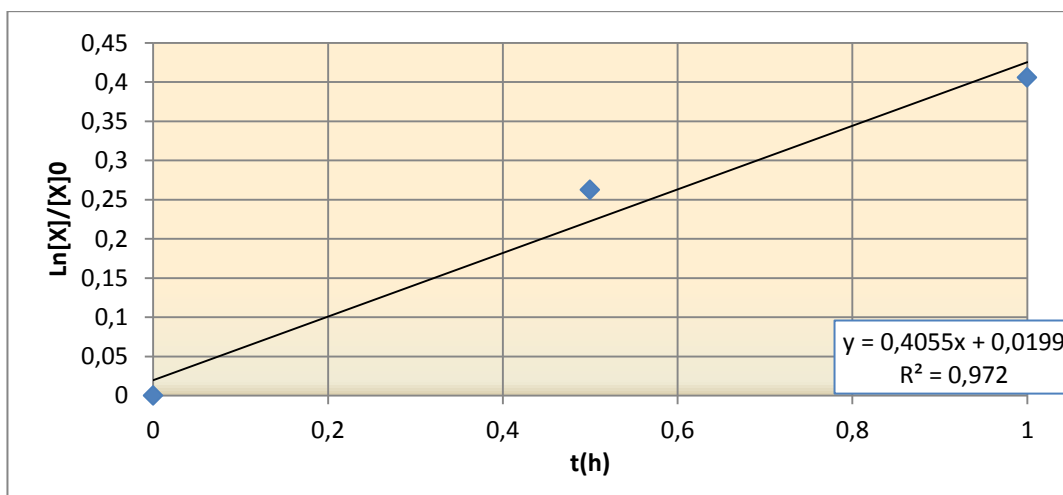
En la Figura 5.10 se muestra el ajuste de los datos experimentales y el modelo logístico obtenido mediante la aplicación del algoritmo LM, empleado en el software Polymath 6.0. Una vez introducido el valor inicial  $\mu = 0,4122\text{h}^{-1}$ , se obtuvo una tasa específica de crecimiento de  $0,2592\text{ h}^{-1}$ , con un ajuste de los datos:  $R^2 = 0,9706$ , varianza de  $0,0409$  y nivel de confianza del  $95\%$ . Este dato está muy cercano a valores obtenidos por (Aguirre, y otros, 2008).



**Figura 5.10:** Ajuste con el modelo logístico en la etapa de crecimiento para LSE1

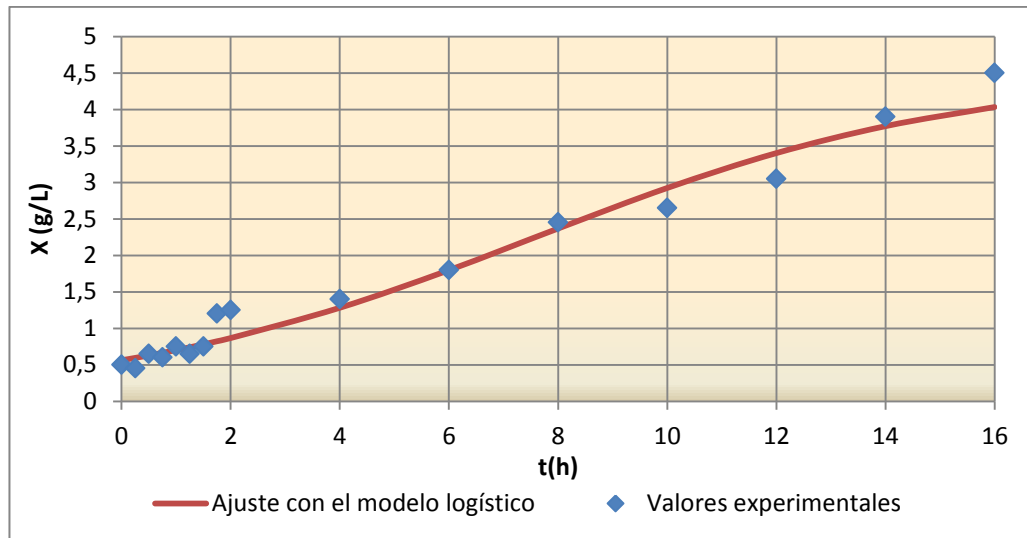
### 5.2.7 Tasa específica de crecimiento ( $\mu$ ) y ajuste de los datos experimentales con el modelo logístico para LSE2

En la Figura 5.11 se observa el ajuste lineal del modelo general de crecimiento para la producción de biomasa (g/L) respecto al tiempo (h) en la primera hora de la etapa de crecimiento para LSE2, donde la pendiente de la ecuación ajustada es de  $0,4055$  y corresponde a la tasa específica de crecimiento.



**Figura 5.11:** Ajuste lineal de crecimiento para LSE2

En la Figura 5.10 se muestra el ajuste de los datos experimentales y el modelo logístico obtenido mediante la aplicación del algoritmo LM, empleado en el software Polymath 6.0. Una vez introducido el valor inicial de  $\mu = 0,4055\text{h}^{-1}$ , se obtuvo una tasa específica de crecimiento de  $0,2563\text{h}^{-1}$ , con un ajuste de los datos:  $R^2 = 0,9682$ , la varianza de  $0,0522$  y nivel de confianza del 95%. Este dato está muy cercano a valores obtenidos por (Aguirre, y otros, 2008).



**Figura 5.12:** Ajuste con el modelo logístico en la etapa de crecimiento para LSE2

## VI. Conclusiones

El lactosuero de cabra es un sustrato adecuado para el crecimiento de microorganismo del genero *Lactobacillus*, debido a su alto contenido nutricional con un valor promedio de sustrato de 71,24 % correspondiente a los azucares totales y 13,98 % de proteínas, ambos valores expresados en % p/p.

El medio LSE2 presentó el mayor rendimiento estimado de biomasa producida con un valor de 0,0643, siendo 1,19 y 1,13 veces mayor con respecto a LSI y LSE1 respectivamente. La productividad promedio obtenida para LSI fue de 0,2741, 0,2429 para LSE1 y 0,2393 para LSE2, lográndose mayor productividad promedio para el LSI.

Con la implementación y ajuste del modelo logístico se obtuvo una tasa específica de crecimiento de  $0,4717 \text{ h}^{-1}$  para LSI,  $0,2592 \text{ h}^{-1}$  para LSE1 y  $0,2563 \text{ h}^{-1}$  para LSE2, logrando así que el medio LSI es el que tiene la mayor tasa de crecimiento de biomasa, el cual es 1,8 veces mayor que para los medios LSE1 y LSE2.

## VII. Recomendaciones

- Adquirir una cepa patrón de *Lactobacillus*.
- Realizar aislamiento de cepas nativas Nicaragüense.
- Realizar estudios cinéticos para el consumo de sustrato, la producción de ácido láctico y demás metabolitos durante la fermentación, para poder determinar parámetros cinéticos.
- Efectuar un estudio de viabilidad económica y técnica del proceso de obtención de biomasa de *Lactobacillus* a partir de lactosuero de cabra, para futuro escalado a planta piloto e industrial.
- Realizar estudios que conlleven al uso de biomasa de *Lactobacillus* obtenida a partir de lactosuero de cabra, orientados a la aplicación en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética.
- Caracterizar los *Lactobacillus* obtenidos en el presente estudio para la biomasa final del proceso de fermentación.
- Controlar el pH durante la fermentación con soluciones buffer para evitar caídas bruscas de pH.

Nomenclatura		
Variable	Descripción	Unidades
$\mu$	Tasa específica de crecimiento	$h^{-1}$
$\delta_L$	Densidad de leche de cabra	g/ml
$m_{pL}$	Masa del picnómetro con leche de cabra	g
$m_p$	Masa del picnómetro vacío	g
$V_L$	Volumen de leche cabra	ml
pH	Grado de acidez	-
$m_{ae}$	Masa de agua evaporada	g
$m_{mL}$	Masa de la muestra de leche cabra	g
$m_s$	Materia seca	g
$H_L$	Contenido de humedad en la leche de cabra	% p/p
$m_{cL}$	Peso de cenizas en la leche de cabra	g
$m_a$	Peso de la capsula con cenizas	g
$m_b$	Peso de la capsula vacía	g
$C_L$	Contenido de cenizas en la leche de cabra	%p/p
$m_m$	Masa de la muestra	g
$G_L$	Contenido de grasa en la leche de cabra	%p/p
$N_L$	Contenido de nitrógeno en la leche de cabra	%p/p
$T_L$	Volumen de hidróxido de sodio/ titular la muestra de leche de cabra	ml
B	Volumen de hidróxido de sodio para titular el blanco	ml
N	Concentración del hidróxido de sodio	N
$P_L$	Contenido de proteínas en la leche de cabra	%p/p
$A_{TL}$	Contenido de azúcares totales en la leche de cabra	%p/p
$\delta_Q$	Densidad aparente del queso fresco de cabra	g/ml
$m_Q$	Masa del queso fresco de cabra	g
$V_Q$	Volumen desalojado del queso fresco de cabra	ml



$m_{mQ}$	Masa de la muestra de queso fresco de cabra	g
$H_Q$	Contenido de humedad en el queso fresco de cabra	%p/p
$m_{cQ}$	Peso de cenizas en el queso fresco de cabra	g
$C_Q$	Contenido de cenizas presente en el queso fresco de cabra	%p/p
$V_F$	Volumen final del Queso	ml
$V_0$	Volumen inicial	ml
$G_Q$	Contenido de grasa en el queso fresco de cabra	%p/p
$N_Q$	Contenido de nitrógeno en el queso de cabra	%p/p
$T_Q$	Volumen de hidróxido de sodio para titular la muestra de queso	ml
$P_Q$	Contenido de proteínas en el queso fresco de cabra	%p/p
$A_{TQ}$	Contenido de azúcares totales en el queso fresco de cabra	%p/p
$\delta_{si}$	Densidad de lactosuero íntegro	g/ml
$m_{psi}$	Masa del picnómetro con lactosuero íntegro	g
$V_{si}$	Volumen de lactosuero íntegro	ml
$m_{msi}$	Masa de la muestra de lactosuero íntegro	g
$m_{aesi}$	Masa de agua evaporada del lactosuero íntegro	g
$H_{si}$	Contenido de humedad en lactosuero íntegro	%p/p
$m_{csi}$	Masa de la cenizas del lactosuero íntegro	g
$C_{si}$	Contenido de cenizas del lactosuero íntegro	%p/p
$m_{csi}$	Masa de cenizas en el lactosuero íntegro	g
$G_{si}$	Contenido de grasa en el lactosuero íntegro	%p/p
$N_{si}$	Contenido de nitrógeno en el lactosuero íntegro	%p/p
$T_{si}$	Volumen de hidróxido de sodio/muestra del lactosuero íntegro	ml
$P_{si}$	Contenido de proteínas del lactosuero íntegro	%p/p
$A_{Tsi}$	Contenido de azúcares totales en el lactosuero	%p/p

	íntegro	
A	Concentración de acidez titulable	%p/v
$V_T$	Volumen gastado de hidróxido de sodio en la titulación	ml
$N_T$	Concentración de hidróxido de sodio	N
$V_m$	Volumen de la muestra	ml
$X_P$	Concentración de biomasa producida para cada muestreo	g/L
$B_F$	Peso seco para cada muestreo	g
$B_S$	Peso seco del lactosuero	g
$r_x$	Crecimiento de biomasa	g/Lxh
X	Concentración de biomasa	g/L
$Y_{X/S}$	Rendimiento estimado	-
$X_{pmax}$	Máxima concentración de biomasa	g/L
$S_0$	Concentración inicial de sustrato	g/L
P	Productividad	g/Lxh
$X_F$	Concentración de biomasa para cada tiempo	g/L
$X_S$	Concentración de biomasa inicial inoculada	g/L
T	Tiempo	h
T	Temperatura	°C
$X_0$	Concentración inicial de biomasa	g/L

### **Glosario de palabras técnicas**

Absorbancia:	intensidad de luz (%) que absorbe una muestra a una determinada longitud de onda.
Ácido láctico:	compuesto químico que desempeña importantes roles en varios procesos bioquímicos, como la fermentación láctica.
Aeróbico:	adjetivo que se emplea en el terreno de la biología para nombrar a aquello vinculado a la aerobiosis. Este concepto (aerobiosis), por su parte, refiere a la vida que se desarrolla en los ambientes que disponen de oxígeno.
Agar:	el agar o agar-agar es una gelatina vegetal de origen marino. Es un polisacárido sin ramificaciones obtenido de la pared celular de varias especies de algas, Su uso principal es como medio de cultivo en microbiología para el crecimiento de bacterias y hongos.
Bacterias:	las bacterias son microorganismos procariotas que presentan un tamaño de unos pocos micrómetros (por lo general entre 0,5 y 5 $\mu\text{m}$ de longitud) y diversas formas incluyendo filamentos, esferas (cocos), barras (bacilos), sacacorchos (vibrios) y hélices (espirilos).
Base seca:	forma de expresar la composición porcentual de una muestra libre de humedad.
Biomasa:	materia orgánica originada en un proceso biológico, espontáneo o provocado, utilizable como fuente de energía, expresada en peso por unidad de área o de volumen.
Biorreactor:	es un recipiente en el que se lleva a cabo un proceso bioquímico que involucra organismos o sustancias bioquímicamente activas derivadas de dichos organismos.
Bioteconológica:	tecnología que estudia y aprovecha los mecanismos e interacciones biológicas de los seres vivos, en especial los unicelulares, mediante un amplio campo multidisciplinario (biología y microbiología).
Caldo:	es un medio líquido enriquecido con sustancias necesarias, apropiado para que crezcan bacterias, se

	reproduzcan y cumplan su función metabólica.
Caseína:	proteína de la leche de los mamíferos que contiene gran cantidad de fosfato y que se emplea en la industria del papel, de pieles, de pintura, en medicina y en alimentación.
Cenizas:	es el producto de la combustión de algún material, compuesto por sustancias inorgánicas no combustibles, como sales minerales.
Cepa microbiológica:	es una variante fenotípica de una especie o, incluso, de un taxón inferior, usualmente propagada clonalmente, debido al interés en la conservación de sus cualidades definitorias. De una manera más básica puede definirse como un conjunto de especies bacterianas que comparten, al menos, una característica.
Cinética de reacción:	corresponde a la velocidad con que sucede en una reacción y de las variables que la afectan
Coloide:	es un sistema formado por dos o más fases, principalmente: una continua, normalmente fluida, y otra dispersa en forma de partículas generalmente sólidas. La fase dispersa es la que se halla en menor proporción y normalmente la fase continua es líquida.
Cuajo:	fermento para cuajar la leche y que existe principalmente en la mucosa del estómago de las crías de algunos animales mamíferos.
Densidad:	relación entre la masa y el volumen de una sustancia, o entre la masa de una sustancia y la masa de un volumen igual de otra sustancia tomada como patrón.
Digestión:	conversión del Nitrógeno (proveniente de las proteínas) en ion amonio mediante calentamiento a una temperatura de 400° C, con adición previa de ácido sulfúrico y catalizador (sulfato de cobre (II) ), que desencadenan la conversión del nitrógeno de la muestra en amonio.
Emulsión:	es una mezcla de dos líquidos inmiscibles de manera más o menos homogénea. Un líquido (la fase dispersa) es dispersado en otro (la fase continua o fase

	dispersante).
Estreptococos:	es un grupo de bacterias formado por cocos gram positivos pertenecientes a las bacterias ácido lácticas. Estas bacterias crecen en cadenas o pares, donde cada división celular ocurre a lo largo de un eje.
Fermentación:	proceso bioquímico por el que una sustancia orgánica se transforma en otra, generalmente más simple, por la acción de un fermento.
Fisión binaria:	es una forma de reproducción asexual que consiste en la división del ADN, seguidas de la división del citoplasma (citocinesis) de una célula, dando lugar a dos células hijas.
Frotis:	método de exploración microscópica de un fragmento de tejido o secreción que consiste en realizar una extensión sobre un portaobjetos y examinarla con el microscopio
Glúcidos:	son biomoléculas compuestas por carbono, hidrógeno y oxígeno, cuyas principales funciones en los seres vivos son el prestar energía inmediata y estructural.
Gravimetría:	es un método analítico cuantitativo que determina la cantidad de sustancia, midiendo el peso de la misma con una balanza analítica.
Homogenización:	proceso por el que se hace que una mezcla presente las mismas propiedades en toda la sustancia.
Inóculo:	término para referirse a los microorganismos o sus partes capaces de provocar infección o simbiosis cuando se transfieren a un huésped o medio de cultivo.
Lactosa:	azúcar presente en la leche de los mamíferos, a la que comunica su sabor dulce.
Lactosuero íntegro:	es la fracción líquida obtenida durante la coagulación de la leche en el proceso de fabricación del queso y de la caseína, después de la separación del coágulo o fase micelar.
Lactosuero enriquecido:	Es cuando se le añade cualquier tipo de nutrientes, vitaminas, proteínas, azúcares, etc. al lactosuero íntegro

	para un determinado fin.
Leche:	es el producto de la secreción normal de la glándula mamaria de animales bovinos sanos, obtenida por ordeño diario, higiénico e ininterrumpido.
Lípidos:	son moléculas compuestas de ácidos grasos. Existen numerosos tipos y constituyen la materia grasa orgánica.
Medio de cultivo:	es un conjunto de componentes que crean las condiciones necesarias para el desarrollo de los microorganismos: macronutrientes, micronutrientes, elementos traza y factores de crecimiento.
Microaerobiosis:	condiciones mínimas de oxígeno que necesitan cierto microorganismos para su reproducción.
Microorganismos:	seres vivos diminutos y unicelulares que únicamente pueden ser apreciados a través de un microscopio
Nucleótidos:	son moléculas orgánicas formadas por la unión covalente de un monosacárido de cinco carbonos (pentosa), una base nitrogenada y un grupo fosfato.
Pasteurización:	es el proceso térmico realizado a líquidos (generalmente alimentos) con el objetivo de reducir la presencia de agentes patógenos que puedan contener.
Peso Seco Celular:	cantidad de masa, generalmente expresada en gramos, que corresponde indirectamente a un valor de unidades formadores de colonia (UFC).
pH:	coeficiente que indica el grado de acidez o basicidad de una solución acuosa.
Probióticos:	microorganismos vivos adicionados que permanecen activos en el intestino y ejercen importantes efectos fisiológicos. Ingeridos en cantidades suficientes, pueden tener efectos beneficiosos.
Proteínas:	es un biopolímero compuesto por aminoácidos que aparecen encadenados por enlaces peptídicos y que cumple diversas funciones, desde estructural, metabólica hasta de transporte.

Proteínas séricas:	conjunto de proteínas contenidas en el lactosuero, llamadas también proteínas de suero o solubles.
Queso:	producto blando, semiduro, duro o extra duro, madurado o no madurado, en el que la proporción entre las proteínas de suero y la caseína no sea superior a la de la leche, obtenido mediante la coagulación total o parcial de la leche por efecto del cuajo u otros coagulantes idóneos, y por escurrimiento parcial el suero que se desprende como consecuencia de dicha coagulación.
Rennina:	es una enzima encontrada en el cuajo. Es producida por las vacas en el abomaso (la cuarta y última cámara del estómago). La rennina es producida por las células principales en el estómago de bebés y niños con el fin de cuajar la leche que toman.
Siembra microbiana:	es el proceso mediante el cual se deposita una pequeña cantidad de microorganismos (inóculo) en un medio de cultivo estéril que permita la multiplicación de dichos microorganismos.
Tinción de Gram:	es un tipo de tinción diferencial empleado en Bacteriología para la visualización de bacterias.
Titulación:	es un método de análisis químico cuantitativo, que se utiliza para determinar la concentración desconocida de un reactivo conocido.
Viscosidad:	es la resistencia interna de un fluido a las deformaciones graduales producidas por tensiones tangenciales como la tensiones cortantes.
Yogurt natural:	producto de la leche coagulada, obtenido por fermentación láctica mediante la acción de <i>Lactobacillus bulgaricus</i> y <i>Streptococcus thermophilus bulgaricus</i> y <i>Streptococcus thermophilus</i> a partir de la leche



## Bibliografía

**Aguirre, E J, y otros. 2008.** Producción de proteína y biomasa probiótica de *Lactobacillus casei* liofilizadas a partir de suero de leche de cabra. [En línea] 2008. [Citado el: 10 de Diciembre de 2013.] [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1665-27382009000100007](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382009000100007).

**Alley, Robert. 1999.** La composición del suero de leche. [En línea] 1999. [Citado el: 17 de Enero de 2014.] [http://www.ehowenespanol.com/composicion-del-suero-leche-info\\_256689/](http://www.ehowenespanol.com/composicion-del-suero-leche-info_256689/).

**Boza , J y Sanz Sampelayo, M R. 2000.** Aspectos nutricionales de la leche de cabra. [En línea] 10 de Julio de 2000. [Citado el: 8 de Marzo de 2015.] [www.insacan.org/racvao/anales/1997/articulos/10-1997-07.pdf](http://www.insacan.org/racvao/anales/1997/articulos/10-1997-07.pdf).

**Braganza, Bárbara . 2012.** Las proteínas y su importancia para nuestro organismo. [En línea] Saluspot, 21 de Marzo de 2012. [Citado el: 07 de Enero de 2014.] <http://www.importancia.org/proteina.php>.

**Castro, Alvaro. 2010.** Sector agroalimentario. *Cualidades medicinales y nutricionales de la leche de cabra*. [En línea] 2010. [Citado el: 21 de Enero de 2014.] [http://www.mag.go.cr/biblioteca\\_virtual\\_animal/cabra\\_propiedades.html](http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_animal/cabra_propiedades.html).

**Chacón, Alejandro. 2005.** Aspectos nutricionales de la leche de cabra (*Capra hircus*) y sus variaciones en el proceso agroindustria. [En línea] 05 de Julio de 2005. [Citado el: 21 de Enero de 2014.] <http://www.redalyc.org/pdf/437/43716214.pdf>.

**Diccionario Gastronómico. 2006.** Arte y Ciencia del Buen Comer. *Enciclopedia Gourmet*. [En línea] 2006. [Citado el: 21 de Enero de 2014.] [http://www.delbuencomer.com.ar/index\\_archivos/diccionario\\_gastronomico\\_l7.htm](http://www.delbuencomer.com.ar/index_archivos/diccionario_gastronomico_l7.htm).

**Dos Santo, Eduardo Joaquin. 2007.** Estudio del comportamiento cinetico de microorganismo de interes en seguridad alimentaria con modelos matematicos. [En línea] 2007. [Citado el: 23 de Julio de 2015.] <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5691/ajse1de1.pdf?sequence=1>.

**Espinoza, Alba Maria. 2002.** valoracion financiera ambiental del uso del suero procedente de la elaboracion de quesos en la region de Camoapa,Boaco. [En línea] octubre de 2002. [Citado el: 7 de 1 de 2014.] [http://www.ciema.uni.edu.ni/paginas/tesis\\_24.php](http://www.ciema.uni.edu.ni/paginas/tesis_24.php).

**Fajardo Lopez, Rene y Solorzano Garcia, Julio Cesar. 2002.** Escalado a planta piloto del proceso de produccion de levadura forrajera ( *C. utilis*). Managua, Nicaragua : s.n., Noviembre de 2002.

**Faro, Jones. 1999.** *Lactobacillus acidophilus*. [En línea] 27 de Julio de 1999. [Citado el: 29 de Abril de 2015.] <http://dwb.unl.edu/Teacher/NSF/C11/C11Links/www.bact.wisc.edu/scienced/Lactobacillusacidophilus.html>.

**Franchi, Oscar. 2010.** Suero de la leche propiedades y uso. [En línea] 2010. [Citado el: 21 de Enero de 2014.] <http://es.scribd.com/doc/47261459/37/Recuperacion-de-proteinas-por-medio-de-la-ultrafiltracion-UF>.

**García , Carlos, Arrazola, Guillermo y Villalva, Marcela. 2013.** Producción de ácido láctico de lactosuero enriquecido utilizando *Lactobacillus casei*. [En línea] Junio de 2013. [Citado el: 29 de Mayo de 2015.] [www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n1/v11n1a17.pdf](http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n1/v11n1a17.pdf).

**Gómez, Dennis Ivan. 2006.** Determinación del porcentaje de grasa láctea en leches enteras reconstituidas empacadas en bolsas plásticas distribuidas en supermercados de la ciudad de Guatemala. [En línea] Mayo de 2006. [Citado el: 24 de Julio de 2015.] [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06\\_2465.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2465.pdf).

**Gonzáles, Johanna Martha. 2011.** Elaboración y evaluación nutricional de una bebida proteica a base de lacto suero y chocho como suplemento alimenticio. [En línea] 2011. [Citado el: 21 de Enero de 2014.] <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1592/1/56T00280.pdf>.

**Gonzalez, Joanna Martha. 2011.** Elaboración y evaluación nutricional de una bebida proteica a base de lacto suero y choco como suplemento alimenticio. [En línea] 2011. [Citado el: 9 de Marzo de 2015.] <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1592/1/56T00280.pdf>.

**Goycoolea , Eduardo y Rocha Hernández, Julieta E. 2012.** Producto y productores de leche. [En línea] 2012 de Agosto de 2012. [Citado el: 21 de Enero de 2012.] <http://www.inforural.com.mx/spip.php?article102581>.

**Hernández, Alejandro. 2015.** *Microbiología de los Alimentos*. [entrev.] Maria Gabriela Mora Estrada y Jhonny Enmanuel Zeledon Granados. Managua, 17-30 de Marzo de 2015.

**Instituto de Salud Publica de Chile. 1990.** Procedimiento para determinar materia grasa. Método hidrólisis ácida-soxhlet. [En línea] 1990. [Citado el: 09 de Marzo de 2015.] [http://www.ispch.cl/lab\\_amb/met\\_analitico/doc/ambiente%20pdf/grasa\\_hidro\\_soxhlet.pdf](http://www.ispch.cl/lab_amb/met_analitico/doc/ambiente%20pdf/grasa_hidro_soxhlet.pdf).

**Jakymec, Miguel, y otros. 2001.** Cinética de la producción de ácido láctico por fermentación sumergida con lactosuero como sustrato. [En línea] 2001. [Citado el: 29 de Abril de 2015.]

<http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/27444/2/articulo8.pdf>.

**La Prensa. 2004.** Nicaragua - Leche de Cabra a la orden. [En línea] 14 de 07 de 2004. [Citado el: 17 de Septiembre de 2013.] <http://www.engormix.com/MA-ganaderia-leche/noticias/nicaragua-leche-cabra-orden-t1206/p0.htm>.

**Lima, Déa De. 1998.** Estrategia para el desarrollo de una cooperativa de cabras con mujeres campesinas en Nicaragua. [En línea] 23-25 de Abril de 1998. [Citado el: 14 de Diciembre de 2013.] <http://cederul.unizar.es/noticias/sicoderxi/10.htm>.

**López, Laura B. 2013.** Estructura de las proteínas. [En línea] 25 de Septiembre de 2013. [Citado el: 21 de Enero de 2014.] <http://www.qo.fcen.uba.ar/quimor/wp-content/uploads/30-9%20clase%20proteinas%202013%20a%281%29.pdf>.

**Matallana, Santiago. 1952.** [En línea] 20 de Mayo de 1952. [Citado el: 24 de Agosto de 2015.] [http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd\\_1952\\_10.pdf](http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1952_10.pdf).

**Mejia, Roxana Beatriz. 2010.** Mediciones de la actividad proteolítica de la enzima papaina. [En línea] Abril de 2010. [Citado el: 17 de Enero de 2014.] <http://ri.ues.edu.sv/2516/1/16102050.pdf>.

**Negri, Livia M. 2005.** PH y la acidez de la leche. [En línea] 2005. <http://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/pH-y-acidez-en-leche2.pdf>.

**Olivera, Jorge. 2011.** Caracterización tecnológica de cepas ácido lácticas aisladas de la leche. [En línea] Julio de 2011. [Citado el: 9 de Marzo de 2015.] <https://www.colibri.udelar.edu.uy/bitstream/123456789/.../uy24-15316.pdf>.

**Parajon, Claudia Patricia. 2001.** Produccion de levadura forrajera (*Candida utilis*) a escala de laboratorio mediante la utilizacion de melasa como medio de cultivo. Managua, Nicaragua : s.n., Agosto de 2001.

**Parra, Ricardo Adolfo. 2008.** Lactosuero: Importancia de la industria de alimentos. [En línea] 24 de Septiembre de 2008. [Citado el: 13 de Septiembre de 2013.] [www.redalyc.org/articulo.oa?id=179915377021](http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179915377021).

**Pérez, Ana Victoria . 2003.** Las empresas de la región buscan nuevos usos para el suero lácteo. [En línea] 26 de Diciembre de 2003. <http://www.dicyt.com/noticias/las-empresas-de-la-region-buscan-nuevos-usos-para-el-suero-lacteo>.

**Punguil, Paola . 2010.** Queso de leche de cabra. [En línea] 29 de Septiembre de 2010. [Citado el: 29 de Enero de 2014.] <http://www.slideshare.net/mairafg/queso-de-leche-de-cabra>.

**Quiles, A y Hevia, M L. 2012.** *La leche de cabra*. España : Casa del libro, 2012.

**Roca, Ana Isabel. 2012.** Composición de la leche de vaca, oveja y cabra para la elaboración de quesos . [En línea] 2012. [http://www.infocarne.com/documentos/composicion\\_leche\\_vaca\\_oveja\\_cabra\\_elaboracion\\_quesos.htm](http://www.infocarne.com/documentos/composicion_leche_vaca_oveja_cabra_elaboracion_quesos.htm).

**Rosales G , Indira y Rodriguez B, Rene Jose. 2010.** Extraccion de Proteinas de Suero Dulce de queso por medio de precipatacion por calor a escala de laboratorio. *Extraccion de Proteinas de Suero Dulce de queso por medio de precipatacion por calor a escala de laboratorio*. Managua, Nicaragua : s.n., 2010.

**Rosales, Indira y Rodriguez B, Rene Jose. 2010.** Extraccion de Proteinas de suero dulce de queso por medio de precipatacion por calor a escala de laboratorio. *Extraccion de Proteinas de Suero Dulce de queso por medio de precipatacion por calor a escala de laboratorio*. Managua, Nicaragua : s.n., 2010.

**Samaniego, Luz Maria y Maryla , Sosa. 2008.** *Lactobacillus* spp.: Importantes promotores de actividad probiótica, antimicrobiana y bioconservadora. [En línea] 10 de Mayo de 2008. [Citado el: 23 de Julio de 2015.] [http://www.bibliociencias.cu/gsdll/collect/libros/import/Actividad\\_Probiotica\\_Antimicrobiana.pdf](http://www.bibliociencias.cu/gsdll/collect/libros/import/Actividad_Probiotica_Antimicrobiana.pdf).

**Sanchez, Cecilia. 1992.** Elaboración de quesos con leche de cabra. [En línea] Abril de 1992. [Citado el: 29 de Enero de 2014.] [http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas\\_tec/FonaiapDivulga/fd40/texto/quesos.htm](http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/FonaiapDivulga/fd40/texto/quesos.htm).

**Sánchez, Manuel D. 2005.** Especies menores para pequeños productores. [En línea] 08 de Agosto de 2005. [Citado el: 17 de Septiembre de 2013.] <http://www.rumela.gob.mx/modules.php?name=News&file=print&sid=87>.

**Sanmartín , Beatriz. 2010.** Aprovechamiento del suero de quesería de origen caprino mediante la obtención de concentrados de proteínas séricas y subproductos de clarificación. [En línea] 2010. [Citado el: 21 de Enero de 2014.] [http://dspace.usc.es/bitstream/10347/5097/1/REP\\_209\\_12.pdf](http://dspace.usc.es/bitstream/10347/5097/1/REP_209_12.pdf).

**Sanmartin, Beatriz. 2010.** Aprovechamiento de suero de queseria de origen caprino. [En línea] Departamento de Quimica Analitica, Nutricion y Bramotologia. Tecnologia de los alimentos., 2010. [Citado el: 17 de Enero de 2014.] [http://dspace.usc.es/bitstream/10347/5097/1/REP\\_209\\_12.pdf](http://dspace.usc.es/bitstream/10347/5097/1/REP_209_12.pdf).

**Van Hees, Arnould. 1999.** Goat Milk Powder: new milk powder producer sees growth in goat whey. [En línea] 1999. [Citado el: 8 de Marzo de 2015.] <http://www.avhdairy.es/>.

**Virto, Raquel. 2013.** Papel de los microorganismos en los procesos fermentativos. [En línea] Abril de 23 de 2013. [Citado el: 23 de Juliio de 2015.] [http://www.innovarioja.tv/docs/976/Ponencia\\_Raquel\\_Virto.pdf](http://www.innovarioja.tv/docs/976/Ponencia_Raquel_Virto.pdf).

**Zela , Jesús María. 2005.** Aspectos nutricionales y tecnológicos de la leche. [En línea] Julio de 2005. [Citado el: 8 de Marzo de 2015.] [http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con3\\_uibd.nsf/7AE7E7AB111562710525797D00789424/\\$FILE/Aspectosnutricionalesytecnol%C3%B3gicosdelaleche.pdf](http://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con3_uibd.nsf/7AE7E7AB111562710525797D00789424/$FILE/Aspectosnutricionalesytecnol%C3%B3gicosdelaleche.pdf).

**Zumbado, Wendy, Esquivel Rodríguez, Patricia y Wong González, Eric . 2006.** Seleccción de una levadura para la producción de biomasa: crecimiento en suero de queso. [En línea] 2006. [Citado el: 7 de Abril de 2015.] [www.mag.go.cr/rev\\_meso/v17n02\\_151.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_meso/v17n02_151.pdf).

# ANEXOS

## ANEXOS A: Equipos utilizados



**Figura A.1:** Balanza analítica de 6000 gramos y  $d = 0,1$



**Figura A.2:** Mufla

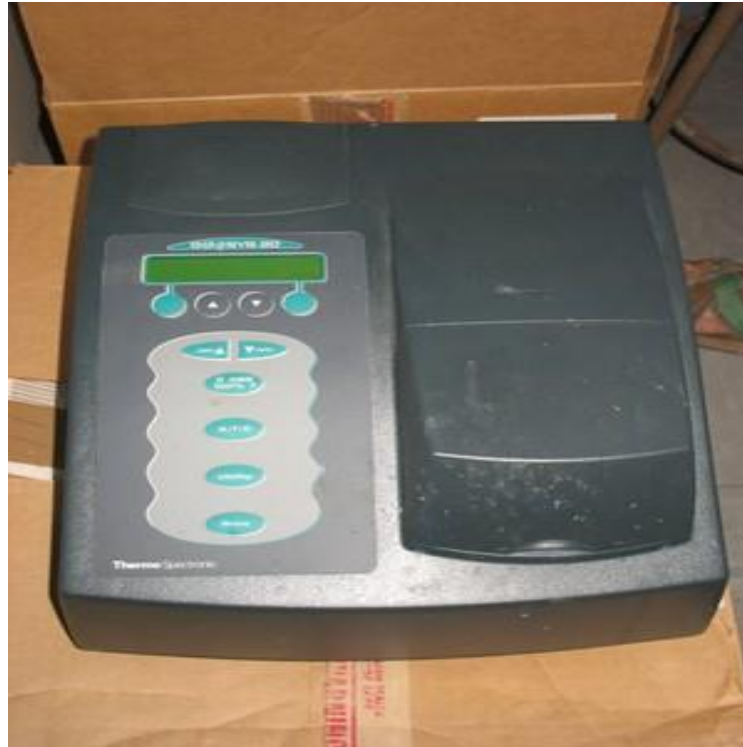




**Figura A.3:** pH-metro



**Figura A.4:** Horno



**Figura A.5:** Espectrofotómetro



**Figura A.6:** Autoclave



**Figura A.7:** Incubadora



**Figura A.8:** Plancha térmica y agitadora



**Figura A.9:** Lámpara germicida UV



**Figura A.10:** Microscopio

## ANEXO B: Datos derivados de la caracterización físico-químicas de leche, queso y lactosuero íntegro de cabra

### ANEXO B.1: Determinación del rendimiento de queso fresco de cabra

En la Tabla B.1 se muestra la cantidad de leche (en gramos) destinada para los análisis físico-químicos de la misma y para la elaboración de queso fresco de cabra. También se muestra la masa y el rendimiento de queso fresco y lactosuero íntegro obtenido a escala de laboratorio.

**Tabla B.1:** Determinación del rendimiento de queso de cabra

Materia prima y subproductos	Valor	Unidades de medida
Leche cruda total	26294,1	g
Leche para caracterización físico-química	4240,5	g
Leche para elaboración de queso	22053,6	g
Lactosuero íntegro	18789,8	g
Queso fresco	3263,8	g
Rendimiento de queso	14,80	%p/p
Rendimiento de lactosuero	85,20	%p/p

Se obtuvo un rendimiento del 85,20 % p/p para el queso fresco y un 14,80 % p/p para el lactosuero íntegro.

### Anexo B.2: Datos derivados del análisis de humedad

En la Tabla B.2 se reflejan los valores obtenidos en la determinación del contenido de humedad en la leche pasteurizada, queso fresco y lactosuero íntegro de cabra mediante el método indirecto de desecación de las muestras.

**Tabla B.2:** Valores obtenidos para la prueba de humedad

	Leche pasteurizada	Queso fresco	Lactosuero íntegro	Unidad
m <sub>c1</sub>	36,65	61,34	28,22	g
m <sub>c2</sub>	27,57	27,21	27,20	g
m <sub>c3</sub>	64,56	29,44	27,26	g
m <sub>m1</sub>	10,07	10,42	10,15	g
m <sub>m2</sub>	10,69	10,08	10,89	g
m <sub>m3</sub>	10,19	9,91	10,20	g

Después de cuatro horas en el horno a 105 °C y enfriado en el desecador				
$m_{c1+ms1}$	38,75	66,18	28,98	g
$m_{c2+ms2}$	28,87	32,04	28,01	g
$m_{c3+ms3}$	65,89	34,11	28,03	g
Contenido de humedad porcentual				
$H_1$	79,19	53,55	92,47	% p/p
$H_2$	87,80	52,02	92,53	% p/p
$H_3$	87,03	52,91	92,47	% p/p
$\bar{H}$	<b>84,67</b>	<b>52,82</b>	<b>92,49</b>	% p/p

Donde:  $m_c$  corresponde a la masa (g) de las capsulas de porcelana vacía,  $m_m$  es la masa (g) de las muestras,  $m_{c+ms}$  es la masa (g) de las capsulas con la materia seca luego de la desecación,  $H$  es el contenido de humedad (%p/p) en las muestras y  $\bar{H}$  es la humedad promedio (%p/p)

Las pruebas se realizaron por triplicado y a ello corresponde los subíndices 1, 2, y 3 en la simbología de las Tablas B.2 y B.3

### ANEXO B.3: Datos derivados del análisis de cenizas

En la Tabla B.3 se muestran los datos obtenidos en la determinación del contenido de cenizas en la leche pasteurizada, queso fresco y lactosuero íntegro de cabra mediante el método indirecto de desecación de las muestras.

**Tabla B.3:** Valores obtenidos para la prueba de cenizas

	Leche pasteurizada	Queso fresco	Lactosuero íntegro	Unidad
$m_{c1}$	36,65	61,34	28,22	g
$m_{c2}$	27,57	27,21	27,20	g
$m_{c3}$	64,56	29,44	27,26	g
$m_{m1}$	10,07	10,42	10,15	g
$m_{m2}$	10,69	10,08	10,89	g
$m_{m3}$	10,19	9,91		g
Después de dos horas en la mufla a 550 °C y enfriado en el desecador				
$m_{c1+mc1}$	36,74	61,64	28,28	g
$m_{c2+mc2}$	27,66	27,59	27,26	g
$m_{c3+mc3}$	64,65	29,71	-	-

Contenido de cenizas porcentual				
$C_1$	0,85	2,91	0,64	% p/p
$C_2$	0,84	3,78	0,59	% p/p
$C_3$	0,81	2,75	-	-
$\bar{C}$	<b>0,83</b>	<b>3,15</b>	<b>0,41</b>	% p/p

Donde:  $m_{c+mc}$  es la masa (g) de las capsulas con la muestra calcinada luego de la desecación,  $C$  es el contenido de Cenizas (%p/p) en las muestras y  $\bar{C}$  es la humedad promedio (%p/p)



## ANEXO B.4: Resultados de las pruebas del contenido de proteína y grasas del LABAL



Gobierno de Reconciliación  
y Unidad Nacional  
*El Pueblo, Presidente!*



### RESULTADO DE ANÁLISIS

Fecha: 06 de octubre de 2015

Señores  
Universidad Nacional de Ingeniería  
Managua

Estimados Señores:

Por medio de la presente, les estamos remitiendo resultados de análisis Físico Químicos, practicados a su muestra rotulada **LECHE PAUSTERIZADA DE CABRA**, recibida el 28 de septiembre del corriente año, según Solicitud de Servicios #212-28-09-2015.

Descripción de muestras	Análisis	Resultados	Unidades
Leche Pausterizada de Cabra	Proteína (N x 6,38)	3,79	%
	Grasa	3,9	%

#### MÉTODO DE ANÁLISIS UTILIZADO:

OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS AOAC  
CAPÍTULO 7 - 16; NÚMERO 7.015 – 16.065 BABCOCK

Sin más a que hacer referencia y esperando continúen formando parte de nuestra familia de clientes, reciban un respetuoso saludo.

  
Lic. José Francisco Pérez  
Analista de Laboratorio



  
Ing. Claudia Castillo C.  
Directora Ejecutiva

NOTA: Este resultado no estuvo sujeto a un plan de muestreo, damos fe solamente por la muestra presentada.



Ministerio de Fomento, Industria y Comercio  
Laboratorio de Tecnología de Alimentos  
Costado este Hotel Real Intercontinental Metrocentro  
Tel. 2267-4635 - Telefax: 2267-5326  
e-mail: [labal.mific@gmail.com](mailto:labal.mific@gmail.com)



Gobierno de Reconciliación  
y Unidad Nacional  
*El Pueblo, Presidente!*



## RESULTADO DE ANÁLISIS

Fecha: 06 de octubre de 2015

Señores  
**Universidad Nacional de Ingeniería**  
Managua

Estimados Señores:

Por medio de la presente, les estamos remitiendo resultados de análisis Físico Químicos, practicados a su muestra rotulada **LACTO SUERO ÍNTEGRO DE CABRA**, recibida el 28 de septiembre del corriente año.

Descripción de muestras	Análisis	Resultados	Unidades
<b>Lacto Suero Íntegro de Cabra</b>	Proteína (N x 6,38)	1,05	%
	Grasa	0,7	%

### MÉTODO DE ANÁLISIS UTILIZADO:

OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS AOAC  
CAPÍTULO 7 - 16; NÚMERO 7.015 – 16.065 BABCOCK

Sin más a que hacer referencia y esperando continúen formando parte de nuestra familia de clientes, reciban un respetuoso saludo.

  
Lic. José Francisco Pérez  
Analista de Laboratorio



  
Ing. Claudia Castillo C.  
Directora Ejecutiva

NOTA: Este resultado no estuvo sujeto a un plan de muestreo, damos fe solamente por la muestra presentada.



Ministerio de Fomento, Industria y Comercio  
Laboratorio de Tecnología de Alimentos  
Costado este Hotel Real Intercontinental Metrocentro  
Tel. 2267-4635 - Telefax: 2267-5326  
e-mail: [labal.mific@gmail.com](mailto:labal.mific@gmail.com)



Gobierno de Reconciliación  
y Unidad Nacional  
*El Pueblo, Presidente!*



## **RESULTADO DE ANÁLISIS**

Fecha: 06 de octubre de 2015

Señores  
**Universidad Nacional de Ingeniería**  
Managua

Estimados Señores:

Por medio de la presente, les estamos remitiendo resultados de análisis Físico Químicos, practicados a su muestra rotulada **QUESO DE CABRA**, recibida el 28 de septiembre del corriente año, según Solicitud de Servicios #212-28-09-2015.

Descripción de muestras	Análisis	Resultados	Unidades
<b>Queso de Cabra</b>	Proteína (N x 6,38)	20,90	%
	Grasa	22,0	%

### **MÉTODO DE ANÁLISIS UTILIZADO:**

OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS AOAC  
CAPÍTULO 7 - 16; NÚMERO 7.015 – 16.065 BABCOCK

Sin más a que hacer referencia y esperando continúen formando parte de nuestra familia de clientes, reciban un respetuoso saludo.

  
Lic. José Francisco Pérez  
Analista de Laboratorio



  
Ing. Claudia Castillo C.  
Directora Ejecutiva

NOTA: Este resultado no estuvo sujeto a un plan de muestreo, damos fe solamente por la muestra presentada.



Ministerio de Fomento, Industria y Comercio  
Laboratorio de Tecnología de Alimentos  
Costado este Hotel Real Intercontinental Metrocentro  
Tel. 2267-4635 - Telefax: 2267-5326  
e-mail: [labal.mific@gmail.com](mailto:labal.mific@gmail.com)

### ANEXO C: Datos derivados de la fermentación

En las Tablas C.1, C.2 y C.3 se muestran los datos de seguimiento a los parámetros de interés durante la fermentación para LSI, LSE1 y LSE2 respectivamente, tales como: pH, incremento de biomasa en el tiempo (mediante absorbancia, peso seco celular y unidades formadores de colonia) y producción de biomasa total (g/L) todo esto a temperatura y agitación constante de 30°C y 300 rpm respectivamente.

Para el cálculo de las unidades formadoras de colonias se utilizó la siguiente relación: donde 1 g de peso seco corresponde a  $5 \times 10^{12}$  UFC

**Tabla C.1:** Parámetros de estudio durante la fermentación de LSI

Tiempo (h)	Peso Seco (g)	Absorbancia	Incremento de biomasa (g)	UFC/g del medio	pH	Biomasa (g/L)
Inicial	0,0505	1,7240			5,7	
0	0,0511	1,9230	0,0005	2,50E+09	5,7	0,5
0,25	0,0511	1,9270	0,0006	2,75E+09	5,7	0,55
0,5	0,0511	1,9333	0,0005	2,50E+09	5,7	0,5
0,75	0,0512	1,9393	0,0007	3,25E+09	5,6	0,65
1	0,0515	1,9410	0,0010	4,75E+09	5,7	0,95
1,25	0,0514	1,9423	0,0009	4,25E+09	5,7	0,85
1,5	0,0516	1,9443	0,0011	5,25E+09	5,6	1,05
1,75	0,0520	1,9650	0,0015	7,50E+09	5,6	1,5
2	0,0520	1,9853	0,0015	7,25E+09	5,5	1,45
4	0,0522	1,9950	0,0017	8,25E+09	5,5	1,65
6	0,0526	2,0147	0,0020	1,00E+10	5,5	2
8	0,0531	2,1437	0,0025	1,25E+10	5,5	2,5
10	0,0533	2,1853	0,0028	1,38E+10	5,4	2,75
12	0,0535	2,1973	0,0029	1,45E+10	4,7	2,9
14	0,0534	2,1937	0,0028	1,40E+10	4,5	2,8
16	0,0534	2,1867	0,0029	1,43E+10	4,4	2,85
18	0,0533	2,1880	0,0027	1,35E+10	4,3	2,7
20	0,0533	2,1853	0,0028	1,38E+10	4,1	2,75
22	0,0534	2,1797	0,0028	1,40E+10	3,7	2,8
24	0,0532	2,1847	0,0027	1,33E+10	3,5	2,65
26	0,0532	2,1807	0,0026	1,30E+10	3,4	2,6
28	0,0531	2,1847	0,0026	1,30E+10	3,3	2,6
30	0,0530	2,1853	0,0025	1,25E+10	3,3	2,5

**Tabla C.2:** Parámetros de estudio durante la fermentación de LSE1

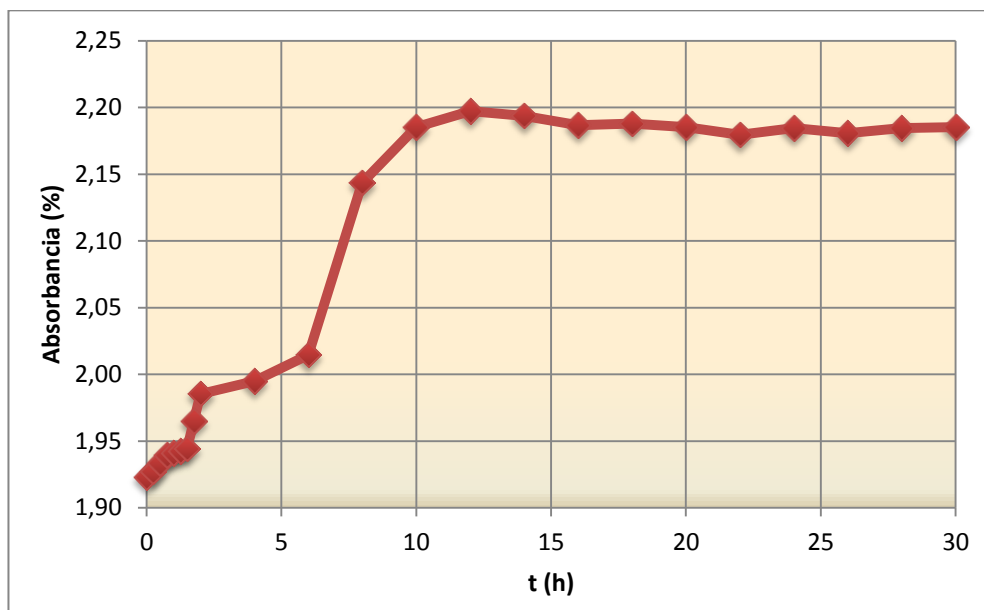
Tiempo (h)	Peso Seco (g)	Absorbancia	Incremento de biomasa (g)	UFC/g del medio	pH	Biomasa (g/L)
inicial	0,055905	1,8107			7	
0	0,05645	1,9943	0,000545	2,73E+09	7	0,545
0,25	0,0564	2,0177	0,000495	2,48E+09	6,4	0,495
0,5	0,05645	2,0147	0,000545	2,73E+09	6,38	0,545
0,75	0,0566	2,0110	0,000695	3,48E+09	6,37	0,695
1	0,05675	2,0163	0,000845	4,23E+09	6,37	0,845
1,25	0,05695	2,0203	0,001045	5,23E+09	6,36	1,045
1,5	0,05715	2,0220	0,001245	6,23E+09	6,35	1,245
1,75	0,05695	2,0223	0,001045	5,23E+09	6,35	1,045
2	0,0571	2,0273	0,001195	5,98E+09	6,1	1,195
4	0,05725	2,0760	0,001345	6,73E+09	5,71	1,345
6	0,05765	2,1017	0,001745	8,73E+09	4,77	1,745
8	0,05845	2,1063	0,002545	1,27E+10	4,72	2,545
10	0,0587	2,1630	0,002795	1,40E+10	4,72	2,795
12	0,05925	2,1977	0,003345	1,67E+10	4,67	3,345
14	0,059	2,2177	0,003095	1,55E+10	4,66	3,095
16	0,0594	2,2200	0,003495	1,75E+10	4,63	3,495
18	0,0599	2,2310	0,003995	2,00E+10	4,62	3,995
20	0,05975	2,2187	0,003845	1,92E+10	4,58	3,845
22	0,05965	2,2187	0,003745	1,87E+10	4,45	3,745
24	0,05968	2,1960	0,003775	1,89E+10	4,41	3,775
26	0,0595	2,1953	0,003595	1,80E+10	4,33	3,595
28	0,05945	2,1843	0,003545	1,77E+10	4,22	3,545
30	0,0594	2,1743	0,003495	1,75E+10	4,15	3,495

**Tabla C.3:** Parámetros de estudio durante la fermentación de LSE2

Tiempo (h)	Peso Seco (g)	Absorbancia	Incremento de biomasa (g)	UFC/g del medio	pH	Biomasa (g/L)
inicial	0,05085	1,9763	0,05085		5,9	
0	0,05135	2,1640	0,0005	2,50E+09	5,9	0,5
0,25	0,0513	2,1537	0,00045	2,25E+09	5,9	0,45
0,5	0,0515	2,1607	0,00065	3,25E+09	5,9	0,65
0,75	0,05145	2,1683	0,0006	3,00E+09	5,8	0,6
1	0,0516	2,1700	0,00075	3,75E+09	5,9	0,75
1,25	0,0515	2,1760	0,00065	3,25E+09	5,9	0,65
1,5	0,0516	2,1730	0,00075	3,75E+09	5,9	0,75
1,75	0,05205	2,1670	0,0012	6,00E+09	5,9	1,2
2	0,0521	2,1660	0,00125	6,25E+09	5,9	1,25
4	0,05225	2,1667	0,0014	7,00E+09	5,9	1,4
6	0,05265	2,1807	0,0018	9,00E+09	5,9	1,8
8	0,0533	2,1967	0,00245	1,23E+10	5,7	2,45
10	0,0535	2,2070	0,00265	1,33E+10	5,7	2,65
12	0,0539	2,2277	0,00305	1,53E+10	5,7	3,05
14	0,05475	2,3283	0,0039	1,95E+10	4,9	3,9
16	0,05535	2,3483	0,0045	2,25E+10	3,8	4,5
18	0,0552	2,3340	0,00435	2,18E+10	3,6	4,35
20	0,05525	2,3407	0,0044	2,20E+10	3,5	4,4
22	0,0551	2,3370	0,00425	2,13E+10	3,4	4,25
24	0,0551	2,3273	0,00425	2,13E+10	3,3	4,25
26	0,0551	2,3370	0,00425	2,13E+10	3,2	4,25
28	0,0546	2,3390	0,00375	1,88E+10	3,2	3,75
30	0,05445	2,3067	0,0036	1,80E+10	3,1	3,6

## ANEXO C.2: Seguimiento de la absorbancia para cada medio de fermentación

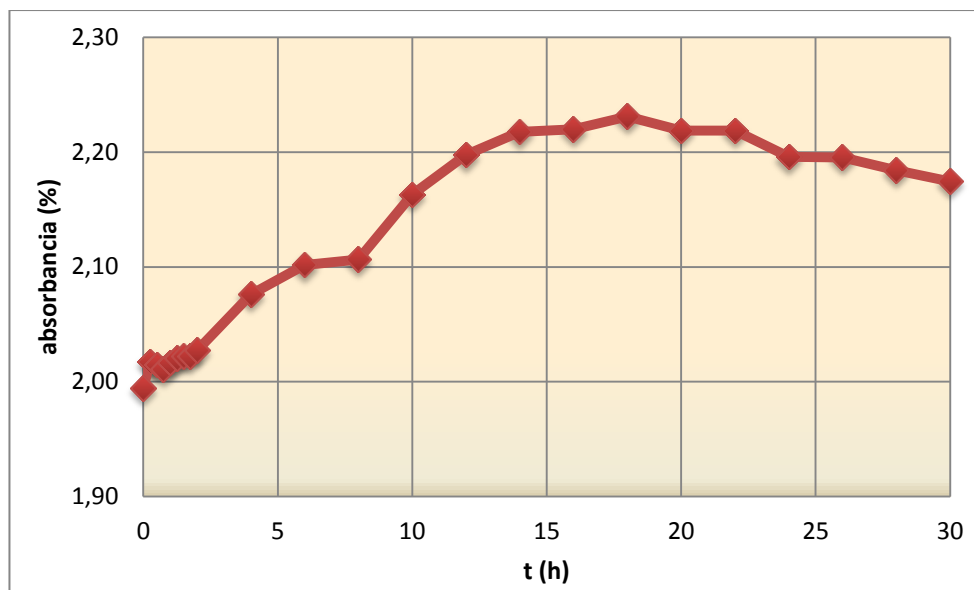
Se tomaron los valores de absorbancia medidos de las Tablas C.1, C.2 y C.3 para la elaboración de las Figuras C.1, C.2 y C.3, donde se observa el comportamiento de la absorbancia en el tiempo para cada medio de fermentación.



**Figura C.1:** Comportamiento de la absorbancia para LSI

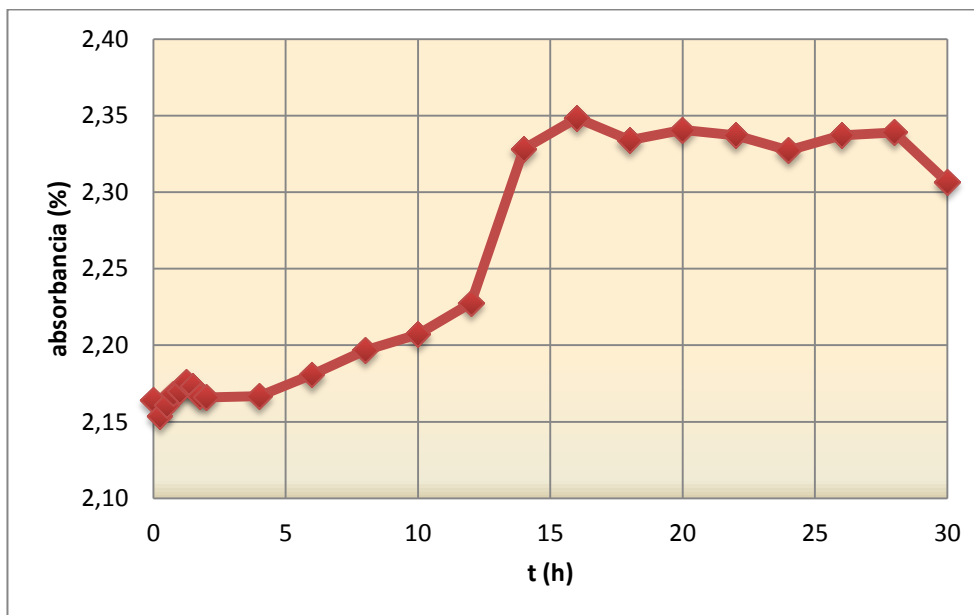
En la Figura C.1 se reflejan los valores de absorbancia durante treinta horas, partiendo de un valor inicial de 1,7240% antes de la inoculación, y después de esta (inoculación) un valor de 1,9230%, teniendo la mayor turbidez a las doce horas con un valor 2,1973% y un valor final de 2,1853% a las treinta horas, durante el proceso se observó aumento de turbidez en el medio y por ende un aumento de la absorbancia y del crecimiento bacteriano.





**Figura C.2:** Comportamiento de la absorbancia para LSE1

En la Figura C.2 se reflejan los valores de absorbancia durante treinta horas, partiendo de un valor inicial de 1,8107% antes de la inoculación, y después de esta (inoculación) un valor de 1,9943%, teniendo la mayor turbidez a las dieciocho horas con un valor 2,2310% y un valor final de 2,1743% a las treinta horas.



**Figura C.3:** Comportamiento de la absorbancia para LSE2

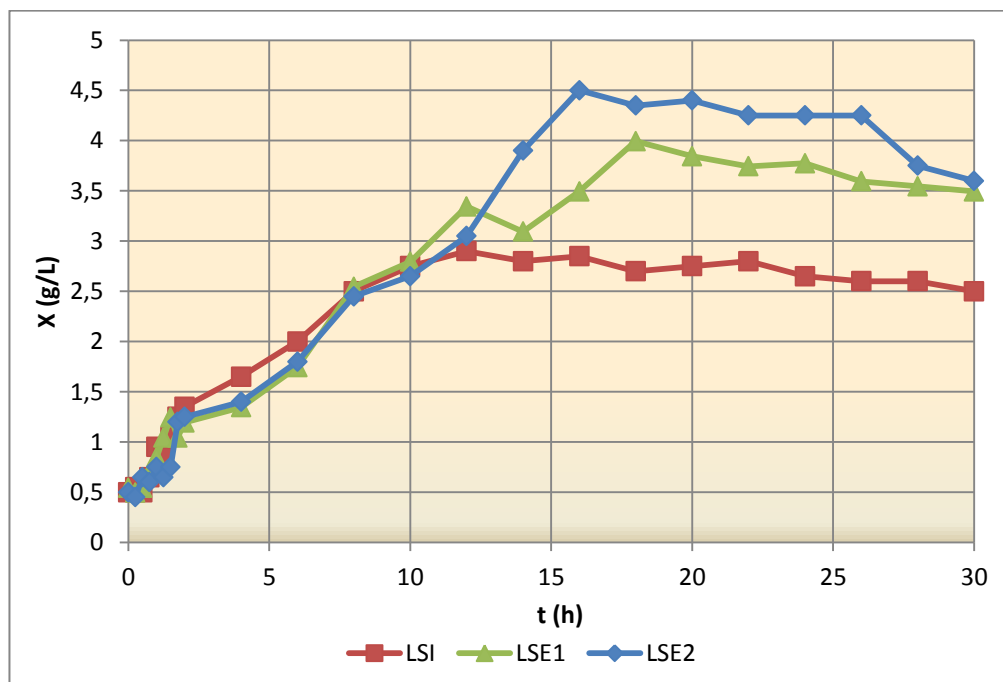
En la Figura C.3 se reflejan los valores de absorbancia durante treinta horas, partiendo de un valor inicial de 1,9763% antes de la inoculación, y después de esta (inoculación) un valor de 2,1640%, teniendo la mayor turbidez a las

dieciséis horas con un valor 2,3483% y un valor final de 2,3067% a las treinta horas.

### ANEXO C.3: Seguimiento de la concentración de biomasa de *Lactobacillus* para cada medio de fermentación

En la Figura C.4 se observan las fases típicas de crecimiento de microorganismos. La fase de crecimiento de la fermentación se obtuvo a las doce horas para LSI, dieciocho horas para LSE1 y a las dieciséis horas para LSE2, mientras que la fase estacionaria osciló entre las doce y las veintidós horas para LSI.

Para la fase estacionaria LSI duro desde doce a las veintidós horas, LSE1 entre las dieciocho y las veinticuatro horas, y para LSE2 desde las dieciséis a las veintiséis horas respectivamente, después de estos tiempos de fermentación se presentó una disminución en la concentración de la biomasa, lo cual indica el inicio de la fase de decaimiento por parte de los microorganismos.



**Figura C.4:** Seguimiento de la concentración de biomasa de *Lactobacillus* para cada medio de fermentación.

### ANEXO C.4: Presupuesto para la fermentación de cada medio de cultivo, a escala de laboratorio

**Tabla C.4:** Costos para la producción de biomasa a partir de LSI

Materia prima y reactivos		
	Cantidad	Precio (C\$)
Leche de Cabra	2,5 L	150
Yogur	5 g	1
Caldo MRS	55 g	255,2
Agar-Agar	24 g	111,36
<b>Total</b>		<b>517,56</b>

Costos energéticos					
Equipo	Tiempo de operación (h)	Consumo (kW)	kWh	C\$ kWh	Costo C\$
Horno	18	1,800	32,400	2,52	81,65
Balanza	5	0,003	0,013	2,52	0,03
pH-metro	11	0,010	0,110	2,52	0,27
Mufla	2	4,600	9,200	2,52	23,18
Incubadora	192	0,350	67,200	2,52	169,35
Microscopio	2	0,004	0,008	2,52	0,02
Plancha agitadora	11	0,800	8,800	2,520	22,177
<b>Total</b>	<b>241</b>	<b>7,567</b>	<b>117,731</b>		<b>296,694</b>

Consumo de Agua			
	m3 gastados	Costo del m3 (C\$)	Total
Agua de limpieza y lavado	0,6	17,5	<b>10,5</b>

Análisis en otros laboratorios	
Proteínas (C\$)	406
Grasas (C\$)	406
<b>Total (C\$)</b>	<b>812</b>

<b>Mano de Obra (C\$)</b>	1066,66
---------------------------	---------

<b>Total (C\$)</b>	<b>2703,41</b>
U\$	<b>93,22</b>

Para producir 2,99 g/L de biomasa

**Tabla C.5:** Costos para la producción de biomasa a partir de LSE1

Materia prima y reactivos		
	Cantidad	Precio (C\$)
Leche de Cabra	2,5 L	150
Yogurt	5 g	1
Caldo MRS	55 g	255,2
Agar-Agar	24 g	111,36
Lactosa	30 g	130,5
Total		<b>648,06</b>

Costos energéticos					
Equipo	Tiempo de operación (h)	Consumo (kW)	kWh	C\$ kWh	Costo
Horno	26	1,800	46,800	2,52	117,94
Balanza	8	0,003	0,020	2,52	0,05
pH-metro	19	0,010	0,190	2,52	0,47
Mufla	2	4,600	9,200	2,52	23,18
Incubadora	192	0,350	67,200	2,52	169,35
Microscopio	2	0,004	0,008	2,52	0,02
Plancha agitadora	19	0,800	15,200	2,52	38,30
Total	268	7,567	138,618		<b>349,33</b>

Consumo de Agua			
	m3 gastados	Costo del m3 (C\$)	Total
Agua de limpieza y lavado	0,6	17,5	<b>10,5</b>

Análisis en otros laboratorios	
Proteínas (C\$)	406
Grasas (C\$)	406
Total (C\$)	<b>812</b>

<b>Mano de Obra (C\$)</b>	1066,66
---------------------------	---------

<b>Total (C\$)</b>	<b>2886,55</b>
U\$	<b>99,54</b>

Para producir 3,995 g/L de biomasa

**Tabla C.6:** Costos para la producción de biomasa a partir de LSE2

Materia prima y reactivos		
	Cantidad	Precio (C\$)
Leche de Cabra	2,5 L	150
Yogurt	5 g	1
Caldo MRS	55 g	255,2
Agar-Agar	24 g	111,36
Sales MRS	4 g	75
Lactosa	30 g	130,5
Extracto de levadura	5 g	22
Total		<b>745,06</b>

<b>Mano de Obra (C\$)</b>	1066,66
---------------------------	---------

Costos energéticos					
Equipo	Tiempo de operación (h)	Consumo (kW)	kWh	C\$ kWh	Costo
Horno	24	1,800	43,200	2,52	108,86
Balanza	7	0,003	0,018	2,52	0,04
pH-metro	17	0,010	0,170	2,52	0,42
Mufla	2	4,600	9,200	2,52	23,18
Incubadora	192	0,350	67,200	2,52	169,35
Microscopio	2	0,004	0,008	2,52	0,02
Plancha agitadora	17	0,800	13,600	2,52	34,27
Total	261	7,567	133,396		<b>336,17</b>

Consumo de Agua			
	m3 gastados	Costo del m3 (C\$)	Total
Agua de limpieza y lavado	0,6	17,5	<b>10,5</b>

Análisis en otros laboratorios	
Proteínas (C\$)	406
Grasas (C\$)	406
Total (C\$)	<b>812</b>

Total C\$	<b>2970,39</b>
U\$	<b>102,43</b>

Para producir 4,5 g/L de biomasa